رقم التسلسل:

رقم الترتيب:

جامعة الشهيد حمه لخضر - الوادي
Université Echahid Hamma Lakhdar - El-Oued

الجمهورية الجزائرية الديمقـراطية الشـعبية

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الشهيد حمه لخضر –الوادي-

كلية علوم الطبيعة والحياة

قسم البيولوجيا

مذكــــرة تخــرج

لنيــل شهـــادة مـــاستر أكـــاديمي

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم بيولوجيا

تخصص: التنوع الحيوي وفيزيولوجيا النبات.

المـــوضـــوع

الفعالية البيولوجية لمستخلصاتنبات السعدان *Neurada procumbens* L.النامي في منطقة وادي سوف

من إعداد:

سمية بحري

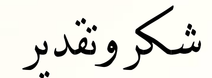
نعيمة منصوري

لجنة المناقشة.

رزق الله شفيقة	رئيسا	جامعة الشهيد حمه لخضر
خالد خراز	مؤطرا	جامعة الشهيد حمه لخضر
قادري منيرة	ممتحنا	جامعة الشهيد حمه لخضر

الموسم الجامعي: 2020/2019


بسم الله الرحمن الرحيم



الحمد لله الذي أنار لنا درب العلم والمعرفة وأعاننا على أداء هذا الواجب ووفقنا على إنجاز هذا العمل ومكان ليتم إلا بفضله وتوفيقه فنشكره شكرا عظيما يليق بجلال وجهه وعظيمسلطانه وبعد:

نتقدم بأسمى عبارات الشكر والعرفان إلى الوالدين الكريمين من كللهما الله بالهيبة والوقار وكانوا حافزا لنا على مواصلة الدراسة ولحرصهم الدائم بالدعاء لنا وتشجيعنا

كما نتقدم بالشكر الجزيل إلى الأستاذ الفاضل خراز خالد الذي لم يبخل علينا بتوجيهاته ونصائحه القيمة طيلة إشرافه على هذا العمل

وتتسع دائرة شكرنا للطاقم المخبري والإداري في كلية علوم الطبيعة و الحياة بجامعة الشهيد حمه لخضر و إلى جميع زملائنا وطلبة دفعة ماستر 2020

وإلى كل من ساعدنا من قريب وبعيد في إنجاز هذا العمل

الإهداء

الحمد لله فالق الأنوار و جاعل الليل و النهار ثم الصلاة على سيدنا محمد المختار

الحمد لله الذي وفقنا لهذا و لم نكن لنصل إليه لولا فضل الله علينا أما بعد

من دواعي الفخر و الإعتزاز أن أهدي ثمرة جهد هذا العمل المتواضع إلى من لا يمكن للكلمات أن توفيهما حقهما إلى من لا يمكن للأرقام أن تحصي فضائلهما إلى" والدي العزيزين" برا و إحسانا بهما و تقديرا لهما أدامهما الله لي..

إلى من حبهم يجري في عروقي و يلهج بذكراهم فؤادي إلى"إخوتي و أخواتي "

إلى أختي و صديقتي و من شاركني في هذا البحث " نعيمة"

إلى كل من تذوقت معهم أجمل اللحظات صديقات الغاليات

إلى كل من علمني حرفا و لقنني علما نافعا...أساتذتي و معلمي الأفاضل

إلى كل من ساعدني و أسعدني إلى كل من حفظهم قلبي و نسيهم قلمي..أهدي هذا العمل

وفي الأخير أرجوا من الله تعالى أن يجعل عملي هذانفعا يستفيدمنه جميع الطلبة المتربصين المقبلين على التخرّج.

سمية

الإهداء

إلهي لا يطيب الليل إلا بشكرك، ولا يطيب النهار إلا بطاعتك، ولا تطيب اللحظات إلا بذكرك ولا تطيب الجنة الآخرة إلا بعفوك، وتطيب الجنة برؤيتك لك الحمد والشكر حمدا كثيرا كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم سلطانك على إمدادنا بالقوة والعزيمة لإتماء وإنجاز هذا البحث

أهدي ثمرة هذا العمل

إلى الذين أخذا بيدي ووفرا لي سبيل التعلم وكانا لي الوجه الطافح حبا وحنانا "والدي الكريمين" أدامهما الله لي وحفظهما

إلى من بوجودهم إكتسبت قوة ومحبة لا حدود لها إلى من عرفت معهم معنى الحياة إخوتي وأختي حفظهم الله وجعلهم ذخرا لي في كل خير

إلى أجمل هدية قدمها لي القدير الذي دفعني وشجعني رفيقي وزوجي العزيز أدامه الله لي

إلى أصدقائي وجميع من وقفوا بجواري وساعدوني بكل ما يملكون الذين أشهد لهم بأنهم نعم الرفقاء وأخص بالذكر مرافقتي في هذا العمل صديقتي الغالية " سمية "

إلى من علمونا حروفا من ذهب وكلمات من درر... إلى من صاغوا لنا علمهم حروفا ومن فكرهم منارة تنير لنا فكرة العلم والنجاح إلى أساتذتنا الكرام

إلى كل من شاركني الحياة وساعدني وأسعدني ولم يذكرهم قلمي لكن القلب سيذكرهم دوما

نعيمة

الملخص

Résumé

Abstract

الملخص:

أجريت هذه الدراسة للتعرف على الفعالية البيولوجية لمستخلصات نباتالسعدان *Neurada procumbens* L. من عائلة (Neuradaceae). النامي في منطقة الوادي (الجنوب الشرقي للجزائر)، وذلك باستخدام نوعين من المذيبات (Ethanol,Methanol) لتحضير مستخلصات الاوراق و الثمار بطريقة النقع (Macération).

الكشف الكيميائي أسفر عن وجود كل من التانينات، الفلافونويدات، الستيرولات والتربينات وغياب كل من الصابونوزيدات، القلويدات والمركبات المرجعة.

قدر مردود المستخلص الإيثانولي للأوراق ب(12.33%) وللثمار ب(8.10%) أما بالنسبة للمستخلص الميثانولي قدر مردوده ب(10.31%) للأوراق و ب(8.91%) للثمار.

نتائج التقدير الكمي لكل من عديدات الفينول و الفلافونويدات أظهرت وجود تناسب طردي بينهما فقد سجلت أعلى قيمة لهما عند المستخلص الإيثانولي للثمار قدرت بـ (ug AGE/mg EX) 1.820 ± 22.751 و (mg AGE/ g EX) 0.025 ± 0.30على التوالي، وأدناها عند المستخلص الميثانولي للثمار (17.550±0.596 ug AGE/ mg EX) و

(mg AGE/ g EX) 0.23±0.008 على التوالي، في حين أبدت نتائج تقدير التانينات المكثفة تفوق المستخلصات الميثانولية على المستخلصات الإيثانولية بتسجيل أعلى قيمة عند المستخلص الميثانولي للأوراق قدرت بـ (mg AGE/ g EX) 6.825 ± 39.13 و أدنى قيمة عند المستخلص الإيثانولي للأوراق قدرت بـ(mg AGE/ g EX) 3.412 ± 28.43 .

تقدير النشاطية المضادة للأكسدة بإستعمال الجذر الحر DPPH،أظهرت النتائج تفوق المستخلص الايثانولي للثمار بقدرة تثبيطية قدرت ب(IC50= 19.389 µg / ml) في حين سجل المستخلص الميثانولي للثمار ادنى قدرة تثبيطية قدرت ب (IC50=33.718 ug/ml)، أمافي إختبار النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) فقد إستخدمنا مستخلص الإيثانول للثمار و الأوراق ، وقد بلغت نسب إنحلال كريات الدم الحمراء عند التركيز 0.8 mg/ml (27.13%) مع حمض الأسكوربيك و القيم (56.47 %، 62.55%) في المستخلص الإيثانولي للأوراق و المستخلص الإيثانولي للثمار على التوالي، و بالنسبة لإختبار القدرة الإرجاعية FRAP فقد إستخدمنا المستخلص الميثانولي للأوراق و المستخلص الإيثانولي للأوراق ، و كانت قيم EC50 لكلا المستخلصين ضعيفة حيث قدرت بـ (0.651 mg/ml , 0.698 mg/ml) للمستخلص الميثانولي للأوراق و المستخلص الإيثانولي للأوراق على التوالي و قيمة (0.010 mg/ml) لحمض الأسكوربيك، و من هذه النتائج يمكن القول أن النشاطية

المضادة للأكسدة لنبات السعدان ضعيفة مقارنة بنشاطية حمض الأسكوربيك عند كل من الاختبارات الثلاثة .

الكلمات المفتاحية: نبات السعدان (*Neurada procumbens* L.)، الفينولات، الفلافونويدات، التانيات المكثفة، النشاطية المضادة للأكسدة، اختبار $DPPH^{\bullet}$، إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء Hémolyse.

Résumé :

Cette étude a été menée pour identifier l'activité biologique d'extraits de la plante Al S'aadan *(Neurada procumbens* L). famille (Neuradaceae). Qui pousse dans la région d'Oued Souf (sud-est de l'Algérie), Nous avons utilisé deux types de solvants (éthanol et méthanol) pour préparer des extraits de feuilles et de fruits par méthode macération

La screening chimique a mis en évidence la présence: de tanins, de flavonoïdes, de stérols et de terpènes, ainsi que l'absence de tous les saponides, alcaloïdes et Les Composées Réductrices.

Le rendement en extrait éthanolique pour les feuilles a été estimé à (12,33%) et pour les fruits (8,10%). Quant à l'extrait méthanolique, le rendement a été estimé à (10,31%) pour les feuilles et (8,91%) pour les fruits.

Les résultats de la quantification de polyphénols totaux et les flavonoïdes ont montré une proportionnalité directe entre eux, Tandis que la valeur la plus élevée pour eux est marqué dans l'extrait éthanolique des fruits estimé à 22.751 ± 1.820 (ug AGE/ mg EX) et 0.30 ± 0.025 (mg AGE/ g EX) respectivement, , et La valeur la plus basse est dans l'extrait méthanolique des fruits estimé à 17.550 ± 0.596 (ug AGE/ mg EX) et 0.23 ± 0.008 (mg AGE/ g EX) respectivement , Alors que les résultats de la détermination des tanins condensés ont montré que les extraits de méthanol surpassaient les extraits à l'éthanol en enregistrant la valeur la plus élevée pour l'extrait méthanolique des feuilles estimé à 39.13 ± 6.825 (mg AGE/ g EX), et La valeur la plus basse est dans Extrait éthanolique de feuille estimé à 28.43 ± 3.412 (mg AGE/ g EX).

Détermination de l'activité antioxydante à l'aide de radical libre DPPH, Les résultats ont montré la supériorité de l'extrait éthanolique des fruits avec une capacité d'inhibition estimée à (IC50 = 19,389 µg / ml), Alors que l'extrait méthanolique des fruits a enregistré la plus faible capacité inhibitrice estimée à (IC50 = 33.718 ug / ml) , Quant au test d'activité contre l'hémolyse des globules

rouges (Hémolyse) Nous avons utilisé l'extrait d'éthanol pour les fruits et les feuilles, où le pourcentage de l'hémolyse était avec C: 0.8 mg/ml (%27.13) avec l'acide ascorbique, alors que les autres valeurs (%56.47 , %62.55) En extrait éthanolique de feuilles et extrait éthanolique de fruits respectivement , Quant au test FRAP Nous avons utilisé un extrait de feuille méthanolique et un extrait de feuille éthanolique, Les valeurs CE50 pour les deux extraits étaient faibles Où estimé a (0.689mg/ml , 0.651mg/ml) Pour l'extrait de feuille méthanolique et l'extrait de feuille éthanolique respectivement , et valeur (0.010 mg/ml) Pour l'acide ascorbique , Et à partir de ces résultats, on peut dire que l'activité antioxydante de la plante Al S'aadan est faible par rapport à l'activité de l'acide ascorbique dans chacun des trois tests.

Les Mots Clé : *Neurada procumbens* L**. ,**les polyphénols **,** les flavonoïdes **,** Les Tanins Condensés **,** l'activité antioxydant **,** Test DPPH$^{\bullet}$,Test d'hémolyse

Abstract:

This study was carried out to identify the biological efficacy of extracts from plant *Neurada procumbens* L . (Neuradaceae) family. Which growth in Oued souf region (south-eastern Algeria), we used two types of solvents (ethanol and methanol) to prepare leaf and fruit extracts by maceration method.

The chemical scrining revealed the presence of tannins, flavonoids, sterols and terpenes, as well as the absence of all saponids, alkaloids and Reducing Compounds.

The yield of ethanolic extract for the leaves was estimated at (12.33%) and for the fruits (8.10%). As for the methanolic extract, the yield was estimated at (10.31%) for the leaves and (8.91%) for the fruits.

The results of the quantification of each of total polyphenols and flavonoids showed a direct proportionality between them, as the highest value was recorded for the ethanolic extract of the fruits, estimated as 22.751 ± 1.820 (ug AGE / mg EX) and 0.30 ± 0.025 (mg AGE / g EX) respectively, and the lowest value was in the extracts methanolic 17.550 ± 0.596 (ug AGE / mg EX) and 0.23 ± 0.008 (mg AGE / g EX) respectively, while the results of the determination of condensed tannins showed the superiority of methanolic extracts on the ethanolic extracts recording the highest value in the extract methanolic of leaves estimated as 39.13 ± 6.825 (mg AGE / g EX) and the lowest value in the ethanolic extract for the leaves , estimated as 28.43 ± 13.412 (mg AGE / g EX).

Determining the antioxidant activity using the free root DPPH, The results showed the superiority of the ethanolic fruit extract with an inhibitory capacity estimated at (IC50 = 19.389 µg / ml), while the methanolic fruit extract recorded the lowest inhibitory capacity estimated at (IC50 = 33.718 µg / ml) , As for the activity test against the dissolution of red blood cells (Hemolysis), we used the ethanol extract of fruits and extract ethanol of leaves , where the rate of hemolysis at concentration: 0.8 mg / ml was (27.13%) with ascorbic acid and

the values (56.47%) (62.55%) in ethanolic leaf extract and ethanolic fruit extract respectively, and for the FRAP back test we used methanolic leaf extract and ethanolic leaf extract, and the EC50 values for both extracts were low as they were estimated at (0.698 mg / ml , 0.651 mg / ml) for the extract of f methanolic leaf and ethanolic extract for the leaves respectively, and a value (0.010 mg / ml) for ascorbic acid, and from these results it can be said that the antioxidant activity of the Al s'aadan plant is low by compared to ascorbic acid activity in The three tests (DPPH, Hémolyse, FRAP).

Key words: Al s'aadan (*Neurada procumbens* L.) , polyphenols , flavonoids, condensed tannins, antioxidant activity , test DPPH$^{\bullet}$, test Hemolysis.

فهرس المحتويات

شكر وتقدير ....

الإهداء ....

الإهداء ....

الملخص ....

Résumé..

Abstract ....

فهرس المحتويات...

فهرس الوثائق: ....

فهرس الجداول: ....

فهرس الأشكال: ....

قائمة الإختصارات:..

مقدمة.. **1**

الجزء النظري

الفصل الأول: الدراسة النباتية للنوع *Neurada procumbens* L.

1-دراسة العائلة النورادية :(Neuradaceae).. **5**

1-1 الخصائص العامة للعائلة:... 5

2- الخصائص العامة للجنس :*Neurada* L. **5**

3- نبات :*Neurada procumbens* L. **6**

4- التصنيف النباتي لنبات :*Neurada procumbens* L.. **8**

5- الإنتشار الجغرافي لنبات السعدان :*Neurada procumbens* L. **9**

6- التركيب الكيميائي للنبات:.. **9**

7- إستعمالات النبات : **10**

الفصل الثاني: نواتج الأيض الثانوي

1- تعريف نواتج الأيض الثانوي:.. **12**

2- تصنيف نواتج الأيض الثانوي:... **12**

1-2 المركبات الفينولية:.. 12

1-1-2 تعريفها:.. 12

1-1-1-2 الأحماض الفينولية:.. 13

2-1-1-1-1 تعريف الأحماض الفينولية:.. 13

2-1-1-1-2 تصنيفها: 13

2-1-1-1-2-1مشتقات حمض البنزويك: 13

2-1-1-1-2-2 مشتقات حمض السيناميك: 14

2-1-1-2 الفلافونويدات:.. 14

2-1-1-2-1 تعريفها:... 14

2-1-1-2-2 تصنيفها: 15

2-1-1-2-3 خواص الفلافونويدات: 16

2-1-1-2-4 الفعالية البيولوجية للفلافونويدات: 17

2-1-1-2-5 أهمية ودور الفلافونويدات بالنسبة للنبات:................................... 17

2-1-1-3 التانينات: 17

2-1-1-3-1 تعريف التانينات:.. 17

2-1-1-3-2 تصنيفها: 18

2-1-1-3-2-1 الدباغ المميهة (Tanins hydrolysable): 18

2-1-1-3-2-2 الدباغ المكثفة :(Tanins condensé)............................ 18

2-1-1-3-3 دور و أهمية التانينات البيولوجية :... 19

2-2 القلويدات:.. 19

2-2-1 تعريفها:.. 19

2-2-2 تصنيف القلويدات:... 19

2-2-2-1 القلويدات الحقيقة (Vrais alcaloides:) 19

2-2-2-2 القلويدات الأولية (Protoalcaloides:)... 20

2-2-2-3 القلويدات الكاذبة (Pseudoalcaloides:)...................................... 20

2-2-3 دور وأهمية القلويدات:... 21

2-3 الإيزوبرانات:.. 21

2-3-1 التربينات:.. 21

2-3-1-1 تعريفها: 21

2-3-1-2 تصنيفها:... 22

2-3-2 الصابونوزيدات:... 22

2-3-2-2 تصنيفها:... 23

2-3-2-2-1 صابونوزيدات ثلاثية التربينويد:... 23
2-3-2-2-2 صابونوزيدات ستيرويدية:... 23

الفصل الثالث: الإجهاد التأكسدي والفعالية المضادة للأكسدة

1- الإجهاد التأكسدي : Les Stress oxydatif **26**
1-1 الجذور الحرة :Les Radicaux libres... 26
1-2 أنواع الجذور الحرة:.. 27
1-2-1 التقسيموفقالإستقرار:.. 27
1-2-1-1 الجذورالنشطة(متفاعلة): 27
1-2-1-2 الجذور المستقرة (الصامدة): 27
1-2-2 التقسيم وفق النوع:... 27
1-2-2-1 الجذورالحرةالأكسجينية: 27
1-2-2-2 الجذورالحرةالنتروجينية:... 27
1-2-2-3 جذور السموم الحرة:.. 27
1-2-2-4 الجذور الحرة الكبريتية:.. 28
1-3أضرارالجذورالحرة:... 28
1-3-1 أكسدة ADN:.. 29
1-3-2 أكسدة الليبيدات: 29
1-3-3 أكسدة البروتينات:... 30
2- مضادات الأكسدةLes Antioxydants : **30**
2-1تعريف مضادات الأكسدة: 30
2-2 أقسام مضادات الأكسدة:... 31
2-2-1 مضادات الأكسدة الطبيعية:.. 31
2-2-1-1 مضادات الأكسدة الإنزيمية: 31
2-2-1-1-1- إنزيم فوق أكسيد الديسموتاز :Superoxyde dismutase 31
2-2-1-1-2- إنزيم الكاتالاز Catalase:... 31
2-2-1-1-3 Glutathion reductase, Glutathion peroxydase (GR)
(Gpx) : 32
2-2-1-1-4 Peroxiredoxine:.. 32
2-2-1-2 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:.. 33

2-2-1-2-1 فيتامين (E) :Vit 33

2-2-1-2-2 فيتامين :CVit.. 33

2-2-1-2-3 الجلوتاثيون :Glutathion.. 34

2-2-1-2-4 :β-Carotine.. 35

5-2-1-2-2 متعددات الفينول:Polyphenols.. 36

2-2-2 مضادات الأكسدة الإصطناعية: 36

الجزء التطبيقي

الفصل الأول:الطرق والمواد المستعملة

I- في الميدان:.. **40**

1-منطقة الدراسة:.. **40**

2- جمع وتحضير العيينة النباتية:.. **40**

II-في المخبر:.. **41**

2- تحضير المستخلص النباتي: **45**

3- الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية:.. **46**

4- التقدير الكمي للمركبات الفينولية :.. **48**

5- تقدير الفعالية المضادة للاكسدة (AAO) :.. **49**

5-1 إختبار: DPPH.. 49

5-2 إختبار النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء: (Hémolyse).................... 51

5- 3 إختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP) : 51

الفصل الثاني: النتائج والمناقشة

I-النتائج: **54**

1- نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية :.. **54**

2- حساب المردود لمستخلص نبات.:Neurada procumbens L........................... **54**

3- التقدير الكمي للفينولات :(PPT).. **55**

4- التقدير الكمي للفلافونيدات :(FV) **57**

5-التقدير الكمي للتانينات :Les tannins **58**

6- تقدير النشاطية المضادة للأكسدة :(AAO).. **60**

6-1 إختبار الفعالية المضادة للجذر الحر:•DPPH.. 60

6-2 نتائج إختبار النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)............. 63

3-6 نتائج القدرة الإرجاعية للحديد :FRAP.. 66

II- المناقشة:... **69**

1-الدراسة الفيتوكيميائية الأولية:.. **69**

2- مردود المستخلصات:.. **70**

3- التقدير الكمي للفينولات و الفلافونيدات:.. **70**

4- تقدير التانينات:.. **71**

5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:... **72**

أولا: إختبار الفعالية المضادة للجذر الحر :DPPH•.. 72

ثانيا: إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء : (Hémolyse)... 73

ثالثا: إختبار القدرة الإرجاعية للحديد :FRAP.. 73

الخاتمة:.. **75**

المراجع.. **77**

الملاحق.. **93**

فهرس الوثائق:

الوثيقة (1): رسم تخطيطي يوضح نبات السعدان.*Neurada procumbens* L............................ 7
الوثيقة (2): صورة لشكل و أجزاء نبات السعدان .*Neurada procumbens* L........................... 8
الوثيقة (3):توضح أماكن انتشار نبات .*Neurada procumbens* L في العالم 9
الوثيقة (4): مخطط يوضح اقسام نواتج الأيض الثانوي 12
الوثيقة (5): توضح التركيب الكيميائي لأقسام الأحماض الفينولية 14
الوثيقة (6): توضح الشكل العام للفلافونويدات والمواقع المتدخلة في تاثيرها الحيوي...................... 15
الوثيقة (7): توضح التركيب الكيميائي للفلافونويدات مع مثال لكل صنف 16
الوثيقة (8): توضح تصنيف التانينات 18
الوثيقة (9): توضح بنية Colchicine.. 20
الوثيقة (10) : توضح بنية Aristolochic acid.. 20
الوثيقة (11): توضح بنية éphédrin... 20
الوثيقة (12):توضح بنية Mesaline (العابد.،2009) 20
الوثيقة (13): توضح بنية Cafeine 21
الوثيقة (14): توضح بنية Conessine.. 21
الوثيقة (15): توضح بنية وحدة الايزوبرين.. 22
الوثيقة (16): توضح مثال عن صابونوزيدات ثلاثية التربينويد β-amyrine 23
الوثيقة (17): توضح مثال عن الصابونوزيدات ستيرويدية Furostane 23
الوثيقة (18): توضح تأثيرات الإجهاد التاكسدي 28
الوثيقة (19):توضحدور الإنزيمات المضادة للأكسدة في سير عملية تثبيط انيون فوق الاكسيد $O_2^{\cdot -}$.... 32
الوثيقة (20): توضحالبنية الكيميائية للمركب α-tocopherol(vitamine E)........................... 33
الوثيقة (21): توضح البنية الكيميائية للفيتامين C (Vit.C) 34
الوثيقة (22): توضح البنية الكيميائية لإنزيم (Glutathion) 35
الوثيقة (23): توضحألية التخلص من الجذور الليبيدية بواسطة Vit. Cو Vit. E و الجلوتاثيون 35
الوثيقة(24): توضحالبنية الكيميائية لمركب β-Carotine(Vitamine A) (GHAYATI.,2019) 36
الوثيقة (25): توضحالبنية الكيميائية لمركبات BHA و BHT(JAKUBCZYK et MICHALKIEWICZ.,2018).. 37
الوثيقة (26): توضح صور لأوراق وثمار نبات السعدان .*Neurada procumbens* L.............. 41
الوثيقة (27): توضح صور لأوراق وثمار نبات السعدان بعد عملية الطحن................................ 41

الوثيقة (28): مخطط يوضح الإستخلاص (النقع) 46
الوثيقة (29): تفاعل مضادأكسدةمعجذرثابت DPPH 50
الوثيقة (30): توضح المنحنى القياسي لحمض الغاليك... 56
الوثيقة (31): توضح المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين... 57
الوثيقة (32): توضح المنحنى القياسي لإمتصاصية الكاتشين... 59
الوثيقة (33): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء(Hémolyse) 64
الوثيقة (34): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في إختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP 66

فهرس الجداول:

الجدول (1): يوضح الوضعية التصنيفية لنبات السعدان .*Neurada procumbens* L.................. 8
الجدول (2): يوضح اقسام التربينات 22
الجدول (3): يوضح الأدوات والأجهزة و المحاليل المستعملة أثناء العمل المخبري........................ 42
الجدول (4): يوضح نتائج الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي لنبات السعدان *Neurada procumbens* L. 54

فهرس الأشكال:

الشكل (01) : مردود المستخلصات الميثانولية و الإيثانولية لنبات السعدان *Neurada procumbens.l* 55

الشكل (02): توضح مخطط بياني لقيم الفينولات المقدرة عند مستخلصات نبات السعدان *procumbens* (*Neurada*L. 56

الشكل (03): توضح مخطط بياني لقيم الفلافونيدات المقدرة عند مستخلصات نبات السعدان *(Neurada procumbens* L.*)* 58

الشكل (04) :توضح مخطط بياني لقيم التانينات المكثفة المقدرة عند مستخلصات نبات السعدان(*Neurada procumbens* L.) 59

الشكل (05): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي للأوراق. 61

الشكل (06): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي للثمار. 61

الشكل (07): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الميثانولي للأوراق 62

الشكل (08): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الميثانولي للثمار 62

الشكل (09): توضح قيم IC50 (المثبطة لنسبة 50% من جذور DPPH•) لمستخلصات نبات السعدان (*Neurada procumbens* L.) و لحمض الأسكوربيك.. 63

الشكل (10): منحنى نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات السعدان *Neurada procumbens.l*.. 64

الشكل (11): منحنى نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي لثمار نبات السعدان *Neurada procumbens* L. 65

الشكل (12): نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء لمستخلصي نبات السعدان ولحمض الأسكوربيك عند التركيز (0.8mg\ml).. 66

الشكل (13): منحنى الإمتصاصية بدلالة تركيز المستخلص الميثانولي لأوراق نبات السعدان 67

الشكل (14): منحنى الإمتصاصية بدلالة تركيز المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات السعدان........... 67

الشكل (15): قيم التركيز الفعال EC50 للقدرة الإرجاعية لمستخلصي نبات السعدان ولحمض الأسكوربيك 68

قائمة الإختصارات:

AAO: Activité Antioxydant

AlCl3: Trichlorure d'aluminium

BHA : Butyl hydroxy anisole

BHT : Butyl hydroxy toluène

CAT: Catalaze

DPPH.: Radical 2,2-Diphenyl-1picrylhydrazil

FV: Flavonoïdes

FeCl3 : Trichlorure de fer

GPx: Glutathion peroxidase

GR : Glutathion reductase

GSH : Glutathion réduit

GSSG : Disulfure de glutathion

H2SO 4: acide sulfurique

HCl : acide chlorhydrique

IC50: Concentration d'Inhibition 50% de DPPH

LOO.: Radical peroxide.

L.: Radicale gras

NADPH: Nicotinamide adénine dinucléotide phosphate.

NAOH: hydroxyde de sodium

NOS: Nitric oxide synthase

Na_2CO_3 :carbonate de sodium

PH2NO: Biphenyl oxide nitrique.

PG: Gallate propylée

PPT: Polyphénols totaux

ROS: Reactive oxygen species

SOD: Superoxide dismutase.

TP3M: Triphenyl methyl.

مقدمة

مقدمة

لم يكن إنتشار طرق المعالجة الكيميائية في عصرنا الحاضر حاجزا للإبتعاد عن إستعمال النباتات الطبية ، بل أن الأمر بعكس ذلك، فلقد إزداد اليوم الإهتمام و التسابق بين كبرى الشركات العالمية لدراسة هذه النباتات و استكشاف الجديد فيها و تصنيع المواد الاولية منها (الموصلي.،2016). فالنباتات تحتوي على عدد كبير من المركبات الفعالة التي تعكس الإمكانات العلاجية لهذه النباتات (بن سلامة.،2012).

إن الأدوية عند دخولها إلى الجسم لا يقتصر تأثيرها على الخلايا المصابة أو العضو العليل فقط ،بل تؤثرعلى الأعضاء السليمة و المصابة في آن واحد، ويؤدي هذا التأثير إلى نتراكم تلك المواد الصيدلانية وكذلك نواتج إستقلابها داخل الجسم مما يسبب إضطرابات في المسارات الإستقلابية (TRUSH *et al*.,1982)، كما ترتبط وظائف الجسم بتفاعلات الأكسدة و الإرجاع التي تؤدي إلى إنتاج الأنواع الأكسجينية النشطة و مضادات الأكسدة الطبيعية، فالتوازن بين إنتاج هذه الجزيئات و التخلص منها يضمن الحفاظ على الوظائف الفزيولوجية الطبيعية للجسم (OZGEN *et al*.,2006)، و مع زيادة تراكم الجذور الحرة تظهر العديد من الأمراض مثل الأمراض الإنحلالية و أمراض القلب و السرطان و الشيخوخة (جيدل.،2015)، و يمكن حماية الجسم من أضرار هذه الجزيئات عن طريق مضادات الأكسدة (بن سلامة.،2012) إذ يمكن لمضادات الأكسدة الطبيعية أن تساهم بصفة معتبرة في دفع خطر بعض الأمراض (PRIOR et GU., 2005) ، فعالم النبات غني بالمواد الطبيعية المضادة للأكسدة و أبرزها نواتج الأيض الثانوي كعديدات الفينول و الفلافونويدات (RACHED., 2009).

ونظرا لما تنعم به بلادنا من نباتات طبية لما لها من مساحات واسعة و تضاريس متعددة و مناخات متنوعة (حليس.،2007)، إرتأينا في هذه الدراسة العلمية إلى تسليط الضوء على أحد نباتات منطقة وادي سوف و التي تعتبر نموذجا مثاليا لتنوع النباتات الصحراوية، و ذلك بطرح الإشكال الآتي: هل تتغير الفعالية البيولوجية و المحتوى الكمي للمركبات الفينولية المستخلصة من النبات بتغير نوع المذيب المستعمل في طرق الإستخلاص؟ و هل يؤثر ذلك على النشاطية المضادة للعوامل التأكسدية ؟

و بهدف إيجاد حل لهذه الإشكالية سنتطرق في بحثنا هذا إلى دراسة نبات السعدان *Neurada procumbens* L من العائلة النورادية (Neuradaceae) النامي في بيئتنا المحلية (منطقة الوادي- الجنوب الشرقي للجزائر) ،حيث تم إستخدام نوعين من المذيبات (ميثانول، إيثانول) لتحضير المستخلصات الكحولية بطريقة النقع، و من ثم تقدير المحتوى الكمي للفينولات و الفلافونويدات و تقدير النشاطية المضادة للكسدة من خلال تقدير الفعالية المضادة للجذر الحر $DPPH^{\bullet}$ و الفعالية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)،حيث قسمنا البحث الى جزئين:

جزء نظري: يحوي ثلاثة فصول، الفصل الأول تطرقنا لدراسة نوع نبات السعدان *Neurada procumbens* L. ، و الفصل الثاني خص بدراسة نواتج الأيض الثانوي، أما الفصل الثالث ضم دراسة الإجهاد التأكسدي و الفعالية المضادة للأكسدة.

جزء تطبيقي: ويحوي فصلين، فصل عرضنا فيه المواد والطرق التي تم إستعمالها في المخبر، أما في الفصل الثاني قمنا بتحليل ومناقشة النتائج المتحصل عليها ومقارنتها بدراسات سابقة. في النهاية لخصت النتائج في خاتمة.

الجزء النظري

الفصل الأول:الدراسة النباتية للنوع *Neurada procumbens* L.

1- دراسة العائلة النورادية:(Neuradaceae) :

تعرف أيضا بالعائلة السعدانية، و هي فصيلة تتبع رتبة الخبازيات (Malvales) من طائفة ثنائيات الفلقة، نباتاتها عشبية سنوية، شعرية، ذات نمو محدود وأوراق بديلة شائكة وتنموا في البيئات القاحلة من المناطق المعتدلة إلى شبه الإستوائية والحارة(BEHERY.,2019)، و هي عائلة صغيرة تتضمن ثلاثة أجناس و عشرة أنواع (MARZOUK et al.,2014) ، جنس *Neurada* و يتضمن نوع واحد ، و جنس *Grielum* و يضم ستة أنواع ، و أخيرا جنس *Neuradopsis* و يضم ثلاثة أنواع (DECRAENE et SMETS.,1995)

1-1 الخصائص العامة للعائلة:

صنفها علماء النبات (Dahlgren.,1983, Cronquist.,1981,Takhatajan.,1980) مع العائلة الوردية (Rosaceae) تحت رتبة الورديات (Rosales) على أساس نمو الأزهار (الخصائص التشريحية للأزهار) ، ثم صنفها العالمان (THorne.,1999,Huber.,1993) ضمن رتبة الخبازيات (Malvales) على أساس معطف البذور و تواجد الأحماض الدهنية في البذور. (DECRAENE et SMETS.,1995). ومن خصائصها العامة مايلي:

- أوراقها متبادلة (بديلة)، بسيطة، مقسمة أو مفصصة.
- أزهارها ثنائية الجنس (خنثة)، إنفرادية إبطية تنتشر على طول الفرع. (تتواجد زهرة واحدة في إبط الورقة).
- الغلاف الزهري 5 بتلات منفصلة و 5 سبلات متصلة.
- الطلع مكون من 10 أسدية في صفين. (الداخلية أقصر من الخارجية)
- المتاع مكون من 5 إلى 10 كرابل متصلة مع القاعدة و معلقة على الجدار الداخلي لأنبوب الكأس، مبيض سفلي. البويضات منحنية و مقلوبة
- تحتوي 10 أنماط (Style) قصيرة متصلة و متصلبة.
- تحوي 10 ثمار جافة ، مسطحة ، دائرية ، البذور منحنية.

(DAOUDI.,2013)

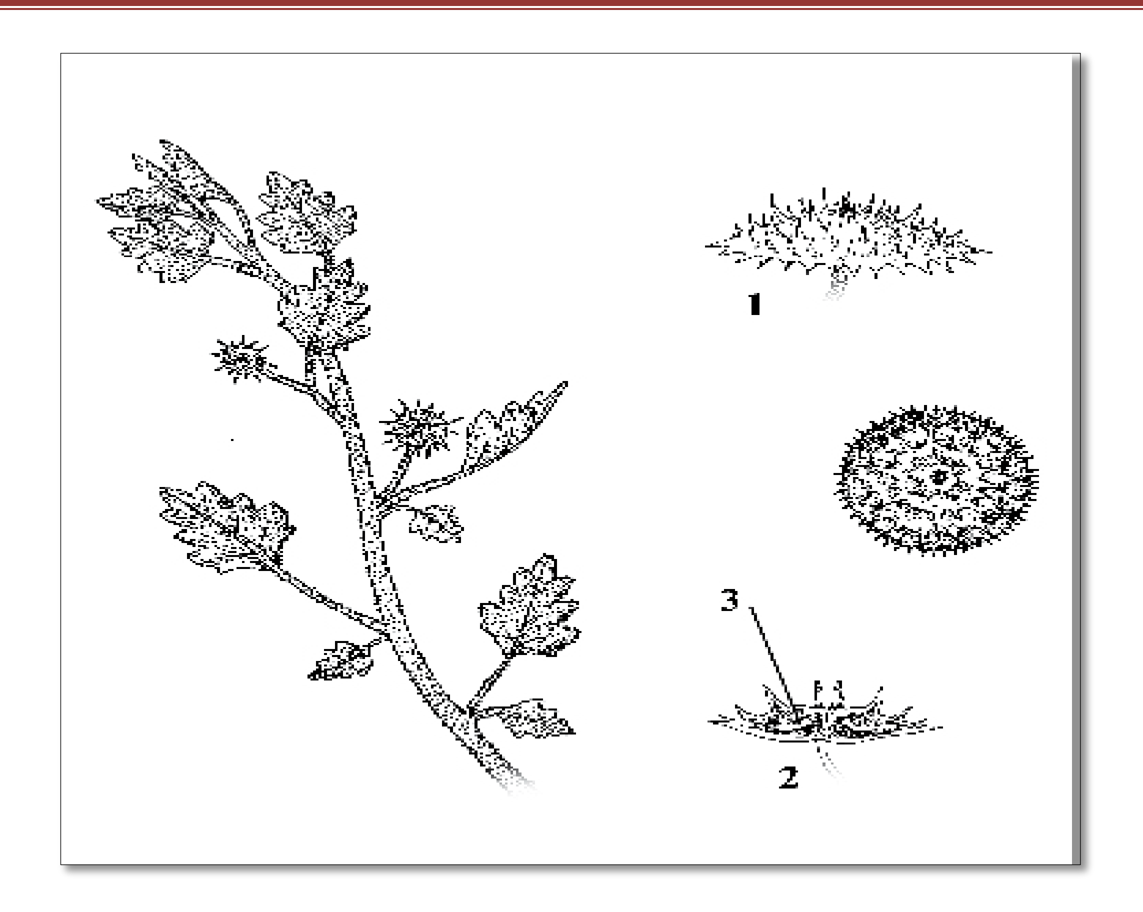
2- الخصائص العامة للجنس *Neurada*L :

و هو جنس أحادي النمط (TURKI.,2007)، نباتاته عبارة عن أعشاب سنوية قليلة الإنتشار ، ذو أزهار مسطحة ، و فاكهة خشبية قرصية الشكل و شوكية على السطح العلوي ، تنتشر من جنوب البحر الأبيض المتوسط إلى الصحاري الهندية. (DECRAENE etSMETS.,1995) ، يتضمن 3 أنواع

:نوع رئيسي *Neurada procumbens* L.*Var procumbens* يمتد من الهند إالى المغرب ، و نوعين ثانويين *Neuradaprocumbens*L.*Varstellata* يمتد إنتشاره من فلسطين إلى الاردن و *Neurada al-eisawii Barsott* ينتشر في جنوب الأردن (BORZATTI.,2002)

3- نبات ***Neurada procumbens* L** :

يرجع أصل التسمية العلمية الى الكلمة اليونانية (*neuron*) و تعني العصب و أيضا (*neupao*) (CHRISTENHUSZ.,2017) . نبات السعدان أو مايعرف ب "الكفيس" معروف جدا بأشواكه التي تفترش الأرض و تضايق الناس، ينمو في أواخر الشتاء و يزهر في فصل الربيع (حليس.،2007) ، و هو عشب حولي صوفي الملمس له فروع منتشرة أو مفترشة و قد يتراوح طولها من 10-30 سم ، له أوراق مستطيلة إلى بيضاوية الشكل كثيفة الشعيرات و تشبه الفصوص، و الأزهار وحيدة في إبط الورقة ، يبلغ قطرها 1 سم و لونها أخضر يميل للأبيض ، الكاسيات خمسة حادة و التويجات خمسة ، و الثمرة كروية مستوية الشكل قطرها يتراوح بين 0.8-1.5 سم محدبة من الأعلى و مسطحة من الأسفل و دائمة مثل الطوق حول النباتات الجديدة ، و بذوره منحنية ذات لون بني داكن طولها حوالي 0.3 سم(محمد كريم و آخرون.،2013)، و من أسمائه الشائعة على نطاق الوطن العربي نجد لصيق، كعتق، لصاق ، ضريس ، شنجرين (غنيمي.،1993)



الوثيقة (1) : رسم تخطيطي يوضح نبات السعدان.*Neurada procumbens* L (حليس،2007)

1.كرسي الزهرة متحور إلى شكل الكفيسة ،والتويج مكون من بتلات صفراء صغيرة جدا.

2.الزهرة سفلية أي أن المبيض ملتحم مع الكرسي ويتوضع أسفل الكأس والتويج،لذلك نجد البذور تتطور داخل الكفيسة (التي هى عبارة عن الكرسي الملتحم مع المبيض)

3.البذورتنبت و هي داخل الكفيسة ،لذلك عندما نقوم بقلع النبات نجد أن الجذريخترق مركز الكفيسة.



الوثيقة (2): صورة لشكل و أجزاء نبات السعدان *Neurada procumbens* L.

1-3- التصنيف النباتي لنبات *Neurada procumbens* L :

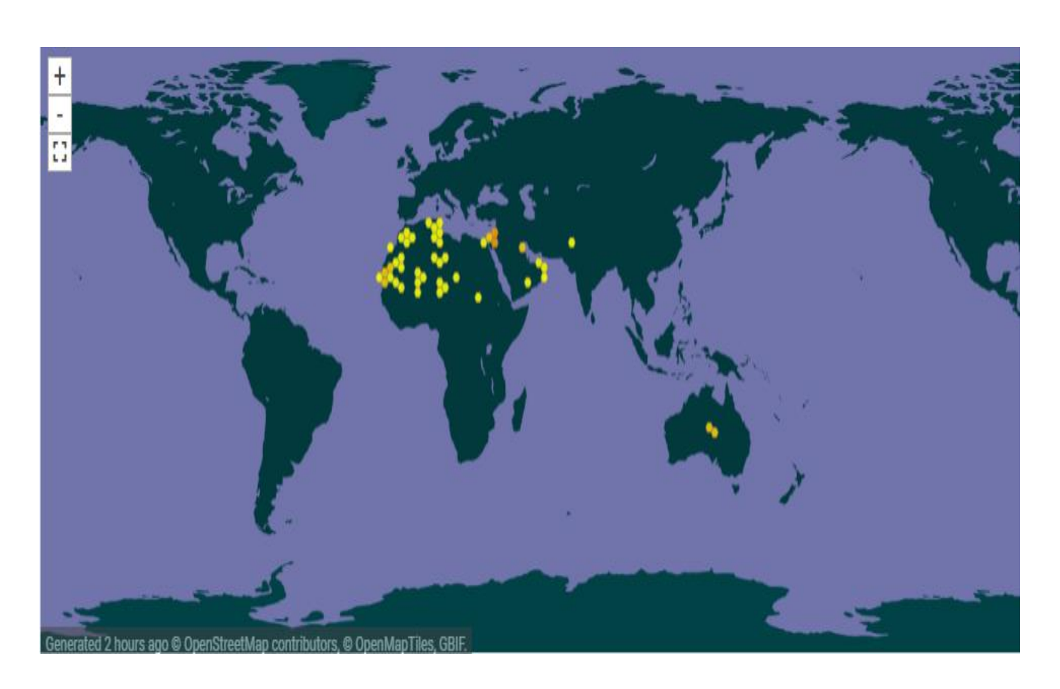
الجدول (1): يوضح الوضعية التصنيفية لنبات السعدان *Neurada procumbens* L.

(ALBRECHT *et al*.,2002)

Plants	المملكة
Spermatophyta	الشعبة
Angiosperms	تحت الشعبة
Dicotylédons	الطائفة
Malvales	الرتبة
Neuradaceae	العائلة
Neurada	الجنس
Neurada procumbens L.	النوع
S'aadan	الإسم الشائع

3-2- الإنتشار الجغرافي لنبات السعدان *Neurada procumbens* L :

يمتد نطاق توزيعها من شمال أفريقيا و منطقة البحرالأبيض المتوسط عبرالشرق الأوسط إلى أفغانستان وباكستان وشمال غرب الهند ، كما تم الإبلاغ عن هذا النوع كأعشاب طبيعية في الصحاري الأسترالية (HEGAZY *et al*.,2014)



الوثيقة (3):توضح أماكن انتشار نبات *Neurada procumbens* L. في العالم

(https://www.gbif.org/species/3701813)

3-3- التركيب الكيميائي للنبات:

من المركبات التي يحتويها النبات نجد القلويدات Alcaloïdes، الصابونين Saponin، و الستيرولات أو تربينات ثلاثية، و كومارينات، و مواد تانينة (غنيمي،1993)، كما تم إستخراج ثلاث مخاطيات حمضية منه و مركبين من الفلافونويد :

(taxifolin glycoside,Taxifolin3-o-α-rhamnopyranoside)، بعد ذلك تم عزل بقية مركبات الفلافونويد مثل Vitexin:, -Vitexin 2''-o-α rhamnopyranoside

Orientin 2''-o-α-rhamnopyranoside ، و Isoorientin 2''-o-α-rhamnopyranosie. (MARZOUK *et al*.,2014).

3-4- إستعمالات النبات :

كان يعتبره البدو صالحا للأكل (عندما تكون الثمار طرية) وأستخدم تقليديا كنبتة طبية لعلاج الإسهال و الزحار (MARZOUK *et al*.,2014)، و مستخلص النبات يقلل من قوة إنقباض القلب، كما يقلل بدرجة ملموسة من ضغط الدم، و يزيد من عملية التنفس، و مضاد للأسيتيل كولين، و ليس له تأثير على درجة حرارة الجسم (غنيمي.،1993)، يستخدم المسحوق المجفف من النبات كامل مع حليب الماعز في ضربة الشمس. وتستخدم جذوره لتخفيف ألم الأسنان وعلاج نزيف اللثة (KUMAR *et al*.,2015)، تستخدم الثمار الجافة في شكل مسحوق مع ماء الورد في الصيف كعامل تبريد و مع المكسرات المجففة كمنشط عصبي في الشتاء (ZAREEN *et al*.,2018) ، و يجب على الأشخاص الذين يعانون من أمراض القلب و الأوعية الدموية توخي الحذر عند إستخدام هذه الأنواع النباتية (AKBAR ET FATIMA.,2012).

الفصل الثاني:نواتج الأيض الثانوي

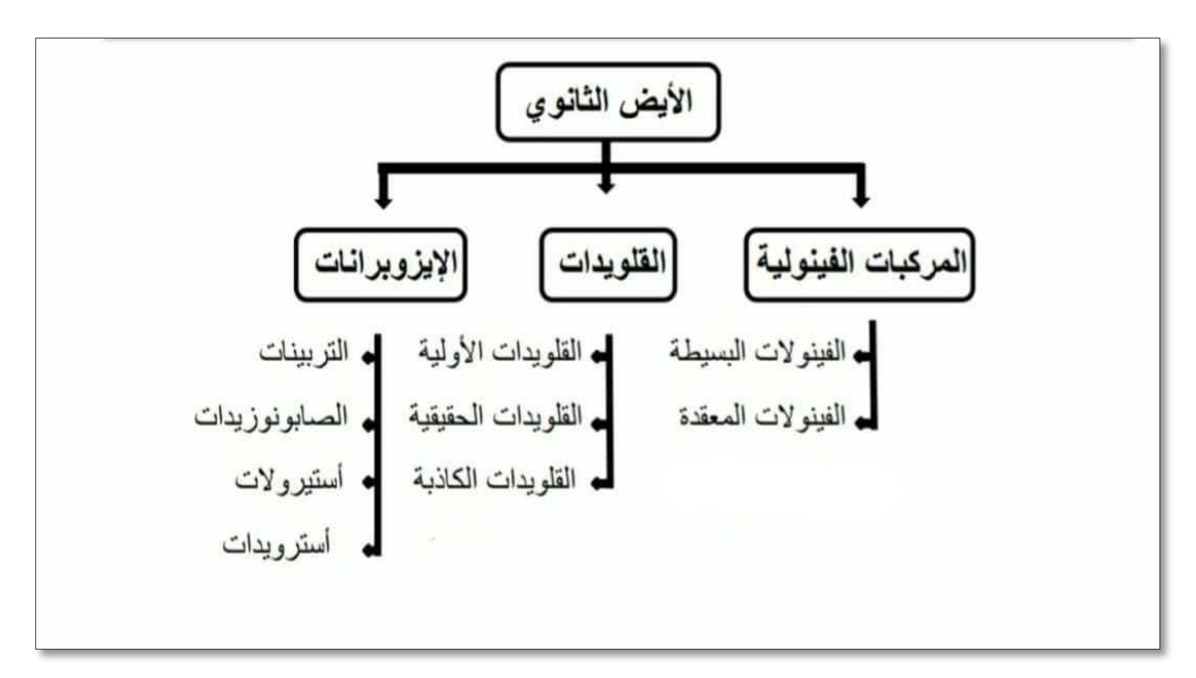
1- تعريف نواتج الأيض الثانوي:

و هي المركبات العضوية التي تنتجها عمليات الأيض الثانوي (الإستقلاب) الجارية في الخلايا الحية، و هي كثيرة و متنوعة منها الفينولات، القلويدات، الجليكوسيدات وغيرها و تؤدي المنتجات الطبيعية دورا مهما في عمليات الأيض داخل الخلية الحية، ولها تطبيقات عدة في شتى المجالات مثل : صناعة الأدوية، الأغذية و صناعة الروائح العطرية وغيرها (بن خليفة و قعيد.،2018).

2- تصنيف نواتج الأيض الثانوي:

يتم إنتاج المستقلبات الثانوية بكميات صغيرة جدا وهناك ما يزيد عن 200000 مركب ثانوي تم تصنيفها وفق للتركيب الكيميائي الذي تنتمي إليه، الصفوف الأساسية للمستقلبات الثانوية هي : المركبات الفينولية ،القلويدات، الإيزوبرونات (ATI.,2018).

هناك ثلاث فئات رئيسية:



الوثيقة (4): مخطط يوضح اقسام نواتج الأيض الثانوي (علية وسعدون.،2017)

2-1المركبات الفينولية:

2-1-1 تعريفها:

هي مستقلبات نباتية ثانوية. يمكن تعريفها على أنها جزيئات ضرورية بشكل غير مباشر لحياة النباتات (ومن هنا جاء اسم المستقلبات الثانوية). على عكس المستقلبات الأساسية التي تغذي المسارات الرئيسية لعملية التمثيل الغذائي الأساسي، لكنها ضرورية في تفاعل النبات مع بيئته (HARRAR.,2012).

تشترك هذه المركبات في وجود حلقة بنزين واحدة أو أكثر، تحمل وظيفة هيدروكسيل واحدة أو أكثر،يختلف هيكل المركبات الفينولية الطبيعية من جزيئات بسيطة (أحماض فينولية بسيطة) إلى جزيئات عالية البلمرة (التانينات المكثفة)، وتضم حوالي 8000 بنية مختلفة معروفة وهي جزء لا يتجزأ من تغذية الإنسان و الحيوان، و يؤدي إختلافها إلى إعطاء العديد من المركبات: الأحماض الفينولية ،الفلافونويدات ،التانينات والعديد من المركبات الأخرى... (عيشاويو قانة.،2018).

يمكن أن تشكل المركبات الفينولية إشارات التعرف بين النباتات، أو تسمح لها بمقاومة الاعتداءات المختلفة فيما يتعلق بالكائنات المسببة للأمراض. يشاركون بفاعلية كبيرة في تحمل النباتات للضغوط المختلفة، لذلك تلعب هذه المركبات دورًا أساسيًا في توازن النبات وتكييفه داخل بيئته الطبيعية (HARRAR.,2012). وتنقسم هذه المركبات إلى: الأحماض الفينولية والفلافونويدات والتانينات(إراتني.،2008).

2-1-1-1 الأحماض الفينولية:

2-1-1-1-1 تعريف الأحماض الفينولية:

هي جزيئات فينولية بسيطة تمثل الوحدة الأساسية للمركبات الفينولية (إراتني.،2008) تتواجد في النباتات الطبية (جيدل.،2015) وهي مركبات قابلة للذوبان في المذيبات العضوية القطبية (بن سلامة.،2012) .

وتنقسم إلى قسمين رئيسيين هما قسم الأحماض المشتقة من حمض Hydroxybenzoic و قسم الأحماض المشتقة من حمض Hydroxycinnamic (جيدل.،2015) . بينما تنتشر الأحماض المشتقة من حمض السيناميك بكثرة ويعتبر حمض caffeic و حمض ferulic نوعين رئيسيين لها (جرموني.، 2009).

2-1-1-1-2 تصنيفها:

2-1-1-1-2-1مشتقات حمض البنزويك:

هي مركبات مشتقة من حمض البنزويك لها هيكل C6-C1 وتتواجد في عاريات البذور (إراتني.،2008) و تتواجد عموما في الحالة الحرة، كما يمكن أن ترتبط بسكريات أو أسترات (حمض الغاليك) (جرموني.، 2009).

2-2-1-1-1-2 مشتقات حمض السيناميك:

هي مركبات فينولية تحتوي على حلقة عطرية مرتبطة بسلسلة مكونة من ثلاث ذرات كربون (إراتني،2008) لها هيكل C6-C3 (علية و سعدون،2017), يمثل هذا القسم الأكثر تواجدا مقارنة بمشتقات حمض Hydroxybenzoic و يشتمل على حمض p-coumaric و حمض cafeic و حمض ferulic و حمض sinapic ونادرا ماتتواجد هذه الأحماض بشكل حر ماعدا في حالات التجميد و التخمير والتعقيم (جيدل،2015).

Protocatechuic acid, R = H;
Vanilic acid, R= OCH3

p-coumaric acid

Caffeic acid, R = H;
Chlorogenic acid, R = 5-quinoyl;
Cryptochlorogenic acid, R = 4-quinoyl;
Neochrogenic acid, R = 3-quinoyl

Gallic acid, R = H;
Syringic acid, R = OCH3

ferulic acid

Sinapic acid

Benzoic acids

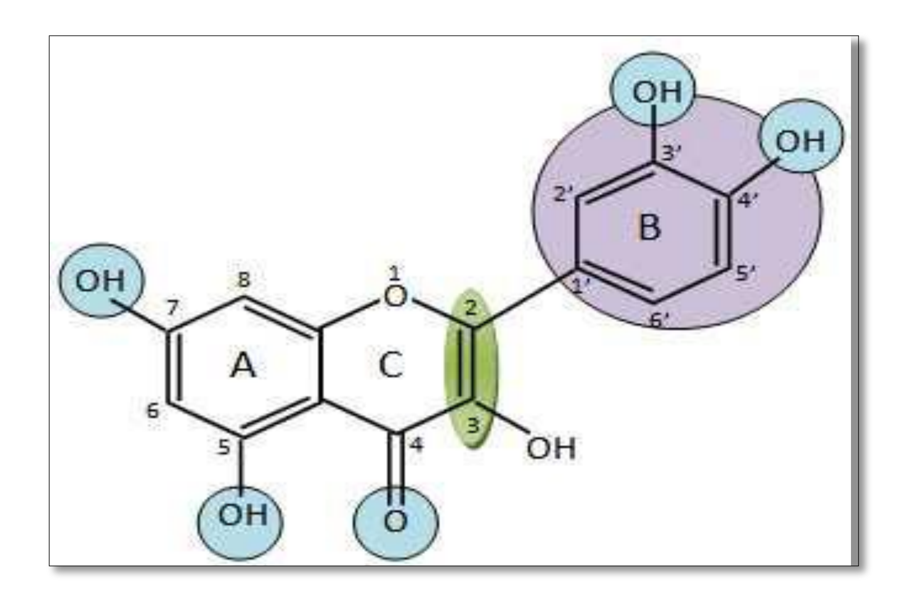
Cinnamic acids

الوثيقة (5): توضح التركيب الكيميائي لأقسام الأحماض الفينولية (جيدل،2015)

2-1-1-2 الفلافونويدات:

1-2-1-1-2 تعريفها:

بالمفهوم العام هي أصباغ نباتية عالمية (DJAHRA.,2014) و يعود أصل تسمية الفلافونويد إلى الكلمة الإغريقية flavus التي تعني اللون الأصفر(باز،2006) و هي عبارة عن عائلة واسعة من المركبات الفينولية التي ينتجها النبات (بن سلامة،2012) تحتوي على أكثر من 4000 نوع، تمتلك بنية كيميائية مشتركة وفيها الهيكل الكربوني يتكون من 15 ذرة كربون C6-C3-C6 موزعة على حلقتين عطريتين سداسيتين (حلقة A و حلقة B) مرتبطتين بحلقة غير متجانسة pyrane أو pyrone و التي تتميز بإحتوائها على رابطة مزدوجة و ذرة أكسجين و تدعى الحلقة C (جرموني، 2009) .



الوثيقة (6):توضح الشكل العام للفلافونويدات والمواقع المتدخلة في تاثيرها الحيوي (بن سلامة.،2012)

2-1-1-2-2 تصنيفها:

تصنف الفلافونويدات إلى عدة مجموعات، كل مجموعة حسب درجة تأكسد الحلقةC،وكذلك حسب نوع التحلق، في حين يجدد نوع الفلافونويد داخل المجموعة الواحدة من خلال المستبدات على الحلقتين B وA (بن مرعاش.، 2012).

1.2.3.1.1.2 الفلافون : يمكن للحلقة B المشار إليها سابقا أن تتواجد في الموضع 2، وتكون الرابطة C2-C3 غير مشبعة سمي المركب حينئذ فلافون (بن مرعاش.، 2012) ، و هذه الفئة الفرعية هي الأقل وفرة في الفاكهة و الخضروات (BELHAOUES.,2018).

2.2.3.1.1.2 الفلافونول : إذا وجدت في الموضع 3 مجموعة هيدروكسيل (OH) حرة أو مستبدلة (OR) لمركب الفلافونويد حيث يتم تثبيت مجموعة الهيدروكسيل في مرحلة الشالكون سمي المركب بالفلافونول، يشكل هذا الأخير نواة أساسية للعديد من المركبات الطبيعية (بن مرعاش.، 2012) ، وهي أكثر مركبات الفلافونويد وفرة في النظام الغذائي (BELHAOUES.,2018).

3.2.3.1.1.2 الفلافانون : هي المركبات التي تكون فيها الرابطة C2-C3في هيكل الفلافونويد مشبعة(بن مرعاش.، 2012).

4.2.3.1.1.2 الانثوسيانين : هي مركبات الفلافونويد التي تحمل شحنة على الأكسجين الموجود في الحلقة المركزية C(BELHAOUES.,2018) و دائما ما تكون مجموعة الهيدروكسيل في الموضع 3 و تتميز بغياب مجموعة الهيدروكسيل في الموضع 4 (BOUDJOUREF.,2011) و لوحظ أن هذه

المركبات هي المسؤولة عن معظم الألوان (الأحمر-البنفسجي والأزرق) في الطبيعة (BELHAOUES.,2018).

5.2.3.1.1.2 إيزوفلافون : تختلف في بنائها عن عن مركبات الفلافونويد في ارتباط الحلقة B إذ ترتبط هذه الأخيرة في الموضع رقم 3 بدلا من الموضع 2 (بن مرعاش.، 2012).

Classe	structure générale	flavonoides typiques	Substituants
Flavanol		(+)-catechin	3,5,7,3′,4′-OH
		(-)-epicatechin	3,5,7,3′,4′-OH
		Epigallocatechin gallate	3,5,7,3′,4′,5′-OH,3-gallate
Flavone		chrysin	5,7-OH
		apigenin	5,7,4′-OH
		rutin	5,7,3′,4′-OH, 3-rutinose
		luteolin	5,7,3′,4′-OH
		luteolin glucosides	5,7,3′-OH, 4′-glucose
			5,4′-OH, 4′,7-glucose
Flavonol		kaempferol	3,5,7,4′-OH
		quercetin	3,5,7,3′,4′-OH
		myricetin	3,5,7,3′,4′,5′-OH
		tamarixetin	3,5,7,3′-OH,4′-OMe
Flavanone (dihydroflavon		naringin	5,4′-OH,7-rhamnoglucose
		naringenin	5,7,4′-OH
		taxifolin	3,5,7,3′,4′-OH
		eriodictyol	5,7,3′,4′-OH
		hesperidin	3,5,3′-OH,4′-OMe, 7-rutinose
Isoflavone		genistin	5,4′-OH, 7-glucose
		genistein	5,7,4′-OH
		daidzin	4′-OH, 7-glucose
		daidzein	7,4′-OH
Anthocyanidin		apigenidin	5,7,4′-OH
		cyanidin	3,5,7,4′-OH,3,5-OMe

الوثيقة (7) :توضح التركيب الكيميائي للفلافونويدات مع مثال لكل صنف (BOUDJELLAL,2009)..

3-2-1-1-2خواص الفلافونويدات:

الفلافونويدات ذوابة في القواعد القوية لكونها مركبات فينولية وتمتاز بصفتها الحمضية الضعيفة، وتزيد قطبيتها إذا كانت تحتوي على عدد أكبر من مجوعات الهيدروكسيل الحرة أو جزيئة سكر أو أكثر وهذا ما يجعلها ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول، الإيثانول، ثنائي مثيل سلفوكسيد، الأسيتون والماء. وجود السكر في جزيئ المركب يجعله أكثر ذوبانية في الماء، أما الفلافونويدات الأقل قطبية مثل

الإيزوفلافونويد و كذلك الفلافونات التي تحمل عددا من مجموعات الميتوكسيل فإنها تذوب في الإيثر و الكلوروفورم (خطاف.،2011).

4-2-1-1-2 الفعالية البيولوجية للفلافونويدات :

زاد الإهتمام في السنوات الأخيرة بالمركبات الفلافونيدية بحيث بينت نتائج أبحاث مكثفة في ميدان الطب والبيولوجيا فعاليتها المضادة للسرطان، المضادة للحساسية، المضادة للفيروسات والبكتيريا والمضادة للأكسدة (بن مرعاش.،2012) كما تحمي من أمراض القلب و الأوعية و لها دور في حماية الجهاز العصبي(بن سلامة.،2012) و تصلب الشرايين و إلتهاب الأمعاء و المفاصل الروماتيزمي و مرض الزهايمر و تنشيط امتصاص الكولسترول (بلفار.،2018).

5-2-1-1-2 أهمية ودورالفلافونويدات بالنسبة للنبات:

للفلافونويدات وظائف و أدوار عديدة فخاصية إمتصاص المركبات الفلافونيدية للأشعة فوق البنفسجية هامة جدا، فهي تقوم بدور الحماية الضوئية للنبات ضد الإشعاعات الضارة حيث تعمل حجابا مرشحا، أيضا أهميتها القيمة في تلوين الأزهار و الفواكه.(ميثاق.،2010) ، حيث أن غالبية الألوان عبارة عن Chalcone و Aurones و Anthocyanins (بن سلامة.،2012) .كذلك دورها الجذاب فهناك علاقة بين لون الأزهار والملحقات، فبعض الحشرات لها جهاز رؤية يسمح بأن تكون حساسة للفلافونويدات فمثلا النحل يفضل الألوان الزرقاء و الصفراء الطيور تفضل اللون الأحمر أما الفراش فيفضل اللون الوردي والأبيض وهكذا توجد صلات متباينة بين الحشرات و النبات(ميثاق.،2010). إضافة إلى ذلك تعمل هذه المركبات على مراقبة نمو و تطور النبات من خلال التداخل بطريقة معقدة مع هرمونات النمو النباتية إضافة إلى دورها الأساسي في حماية النباتات من الإصابات البكتيرية و الفطرية، تمتلك الفلافونويدات قدرة على التدخل في العديد من النشاطات البيولوجية، حيث سميت بالمعدلات الطبيعية للإستجابات البيولوجية من خلال تثبيط و إختزال مختلف الإنزيمات مثل lipo-oxygenase و telomerase وcycloxygenase و المساهمة في مسارات نقل الإشارة الخلوية و تنظيم الدورة الخلوية (جيدل.،2015).

3-1-1-2 التانينات:

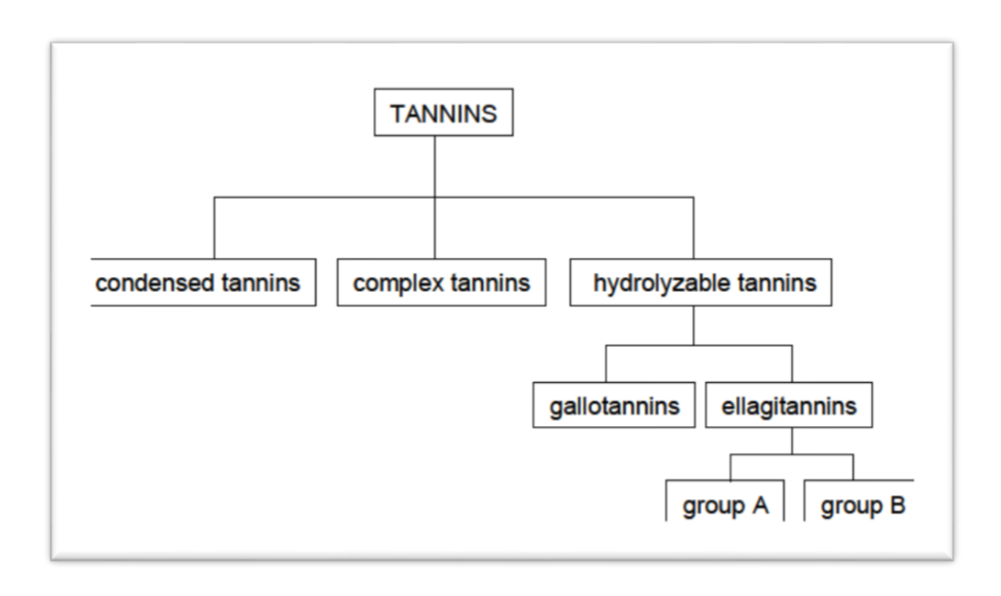
1-3-1-1-2 تعريف التانينات:

عبارة عن عديدات فينولية قطبية غير ملونة، تتواجد تقريبا في كل جزء من النبات، الخشب والأوراق والقشرة والثمار والجذور، وزنها الجزئي يصل إلى 500-30000 دالتون(جرموني.،2009) ،

تذوب في الماء بإستثناء بعض البنيات ذات الوزن الجزيئي العالي (إراتني،2008), لها القدرة على تشكيل معقدات مع البروتينات و السكريات والقلويدات والأحماض النووية والمعادن (جيدل،2015).

2-1-1-3-2تصنيفها:

تنقسم الدباغ إلى مجموعتين: الدباغ المميهة (Tanins hydrolysable) والدباغ المكثفة (Tanins condensé) (إراتني ،2008) و الدباغ المعقدة (BOUDJOUREF.,2011).



الوثيقة (8): توضح تصنيف التانينات (BOUDJOUREF.,2011).

2-1-1-3-2-1 الدباغ المميهة (Tanins hydrolysable):

وهي عبارة على متعدد وحدات غير متجانسة تتكون نتيجة لأسترة المجاميع الهيدروكسيلية للغلوكوز بأحماض فينولية سواءا كان حمض gallic وتسمى الدباغ في هذه الحالة ب gallotannins أو حمض ellagic وتدعى عندئذ ellagitannin، تتفكك الدباغ المميهة بسهولة في الأوساط الحامضية والقاعدية وبواسطة بعض الإنزيمات لتحرير الغلوكوز و أحماض فينولية (جيدل،2015).

2-1-1-3-2-2 الدباغ المكثفة :(Tanins condensé)

من البنيات الأكثر تعقيدا، و تسمى أيضا prothocyanidines واسع الإنتشار في المملكة النباتية وتتواجد في العديد من المنتجات الغذائية (فواكه، خضروات، مشروبات ..) (BOUDJELLAL.,2009)، تمثل مركبات flavan-3-ols (catechin) ومركبات 4-dilos , flavan-3 الوحدات الأساسية في تشكيل الدباغ المكثفة ، ترتبط فيما بينها بروابط كربون-كربون ما يجعلها أكثر مقاومة للإماهة (جيدل،2015).

3-3-1-1-2 دور و أهمية التانينات البيولوجية:

بفضل خاصيتها القابضة تستخدم طبيا كمضادات للإسهال و مضيق للأوعية الدموية و أيضا تستخدم في علاج الدوالي و البواسير (BOUDJOUREF.,2011)، أما في الصناعة فيتم إستخدامها على نطاق واسع في صناعة الجلود والتي لها خاصية تحويل جلود الحيوانات الطرية إلى جلود غير قابلة للتعفن (العابد.، 2009) و أيضا في صناعة الملمعات و الدهانات (BOUDJOUREF.,2011).

2-2 القلويدات:

1-2-2 تعريفها:

مصطلح قلويد أدخل في سنة 1818 من طرف Meissner ولفظ القلويد عبارة عن مركب عضوي قاعدي له صفات القلوية ومنها اشتقت و تحولت إلى كلمة القلويد أي القاعدة النباتية (شبوعات.،2003)

يعود ذلك لإحتوائها في تركيبها الكيميائي على ذرة نتروجين أو أكثر في الحلقة غير المتجانسة توجد حوالي 1600 قلويدا معرف البنية (حوة.،2013).

2-2-2 تصنيف القلويدات:

قد تلجأ بعض المصادر إلى تصنيف القلويدات وفقا للفصائل النباتية المستخلصة منها ولكن تزايد إكتشاف المئات من هذه المركبات في الوقت الحاضر حال دون إستخدام مثل هذا التقسيم و هناك العديد من المحاولات لوضع نظام تقسيمي يضم أغلب القلويدات، و لقد كانت أكثر المحاولات قبولا وإنتشارا هو نظام التقسيم الذي وضعه هيجانور(Heganauer) (شبوعات.،2003) (العابد.،2009).

1-2-2-2 القلويدات الحقيقة (Vrais alcaloides):

هي قلويدات سامة ولها تأثيرات فيزيولوجية متباينة ومختلفة في القاعدية و تحتوي على ذرة نيتروجين واحدة أو أكثر في حلقات متغايرة وهي مشتقات من الأحماض الأمينية وتوجد في النباتات على هيئة أملاح للأحماض العضوية، ولكن هذه الخواص ليست دائمة محققة فمثلا الكولشيسين (colchicine) وحامض الأرستولوجيك (Aristolochic acid) هما ليس قاعديان، وهذا فضلا عن عدم تواجد ذرة النيتروجين في حلقة متغايرة (العابد.،2009) ،(شبوعات.، 2003) .

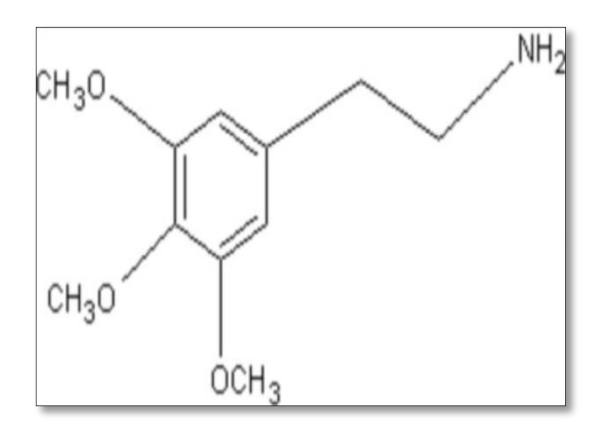
الوثيقة(9): توضح بنيةColchicine(العابد.،2009).

الوثيقة(10):توضح بنية Aristolochic acid

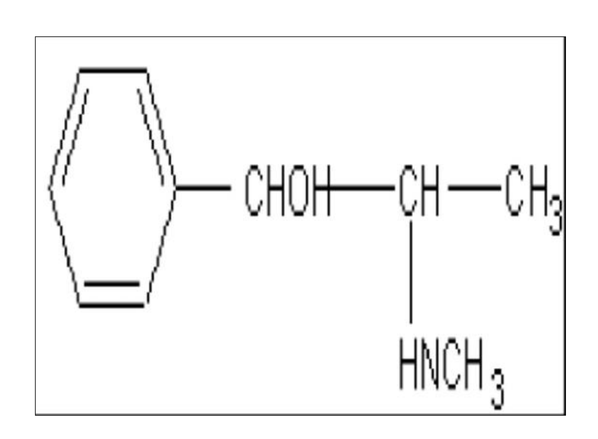
(العابد.،2009).

2-2-2-2 القلويدات الأولية (Protoalcaloides) :

هذه القلويدات عبارة عن أمينات بسيطة تكون فيها ذرة الآزوت خارج الحلقة وهي قلويدات قاعدية، ويتم تخليق القلويدات في داخل الأنسجة النباتية من الأحماض الأمينية و غالبا ما يطلق عليها بالأمينات الحيوية مثلا: (العابد.،2009) ،(شبوعات.، 2003).



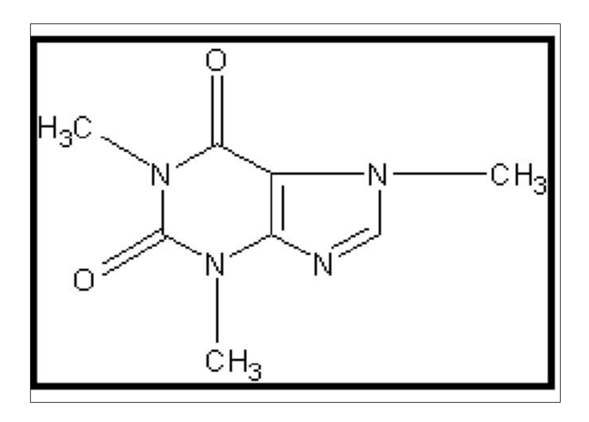
الوثيقة(11): توضح البنية الكيميائية لـéphédrin (العابد.،2009)



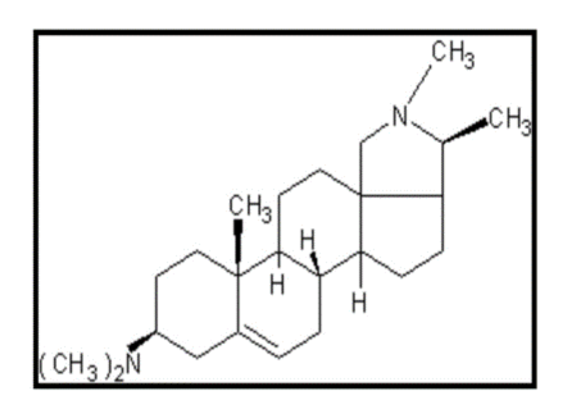
الوثيقة (12):توضح البنية لـMesaline (العابد.،2009)

3-2-2-2القلويدات الكاذبة (Pseudoalcaloides) :

هي قلويدات قاعدية و التي تشتق من الحموض الأمينية، يندرج تحت هذا القسم القلويدات الستيرويدية والقلويدات بيورينات (Purunes)، مثلا conessine, caffeineولعل هذا التقسيم مقبول لمعالجة أفراد هذه الطائفة من المنتجات الطبيعية على الرغم من أن هناك بعض الشذوذ لأفراد قليلة من هذه المركبات، تنتهج غالبية المصادر تقسيم القلويدات تبعا لتركيبها الكيميائي إلى عدد من الأصناف يعتمد على تركيب الحلقة غير المتجانسة التي تتكون منها تلك القلويدات(العابد.،2009) ،(شبوعات.،2003).



الوثيقة(13):توضح البنية الكيميائية لـ Cafeine (العابد.،2009)



الوثيقة (14):توضح البنية الكيميائية لـ Conessine (العابد.،2009)

2-2-3 دور وأهمية القلويدات:

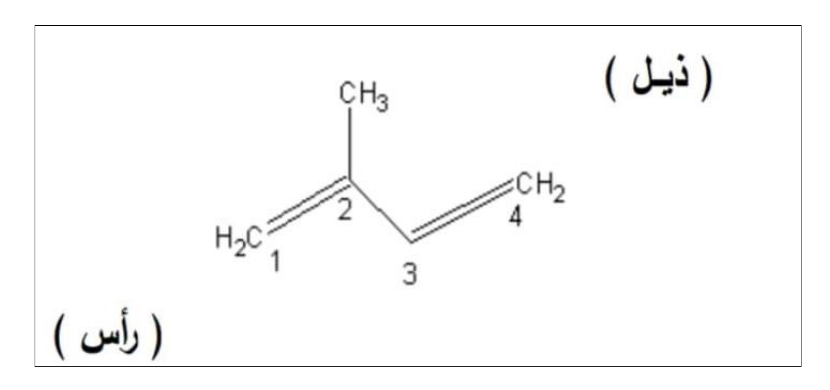
تعد القلويدات نواتج ثانوية تكمن أهميتها في كونها تستخدم كوسائل للدفاع ،كطرد الحشرات و إيقاف نمو البكتيريا إضافة لكونها مخازن لبناء البروتينات هذا بالنسبة للنبات بينما تعد مهمة في الطب فهي تستخدم للتخدير وغيرها (حوة.،2013) ولكن تؤخذ بجرعات يسيرة، فمثلا الأدرنالين و النور أدرنالين و الأفيدرين حيث يشار بعقاقير الضغط نظرا لما لها من أثر فسيولوجي مهم في رفع ضغط الدم و يستعمل الأدرنالين لوقف النزيف، و يستخدم الأتروبين في جراحة وطب العيون، أما الكوكايين فهو مخدر و الكينين يستعمل لعلاج الحمى والملاريا (العابد.،2009).

2-3 الإيزوبرانات:

2-3-1 التربينات:

2-3-1-1تعريفها:

اقترح مصطلح التربين في عام 1880م، عندماعثرعلىالمركب C10H16 في زيت الزيتون و التربينات مجموعة هائلة من المنتجات الطبيعية ذات الهياكل الكربونية المتنوعة بدءا من السلاسل الخطية البسيطة و إنتهاءا إلى بنى متعددة الحلقات الكربونية ، إذ أحصى العلماء أكثر من 3000 مركب فهي تشكل بذلك المنتجات العظمى للمملكة النباتية (حوة.،2013)، الوحدة البنائية لها هي الايزوبرين Isoprène(C5H8) ذات 5 ذرات كربون (العابد.،2009).



الوثيقة (15):توضح بنية وحدة الايزوبرين (العابد.،2009)

2-3-1-2 تصنيفها:

تتميز التربينات بأنها تشترك في الوحدة الأساسية، وتصنف على أساس عدد الوحدات الأساسية المكررة (حوة.،2013) إلى:

الجدول(2): يوضح اقسام التربينات (العابد.،2009)

عدد ذرات الكربون	اسم التربين	وحدات الايزوبرين
10	Mono Terpènes أحادي التر ابين	2
15	Sesqui Terpènes سيسكوتربينات	3
20	Diterpènes ثنائي التربين	4
30	Tri terpènesالثلاثي التربين	6
40	Tetra terpènesرباعي التربين	8
أكثر من 40	Poly terpènesمتعدد التربين	أكثر من 8

2-3-2 الصابونوزيدات:

1.2.3.2 تعريفها:

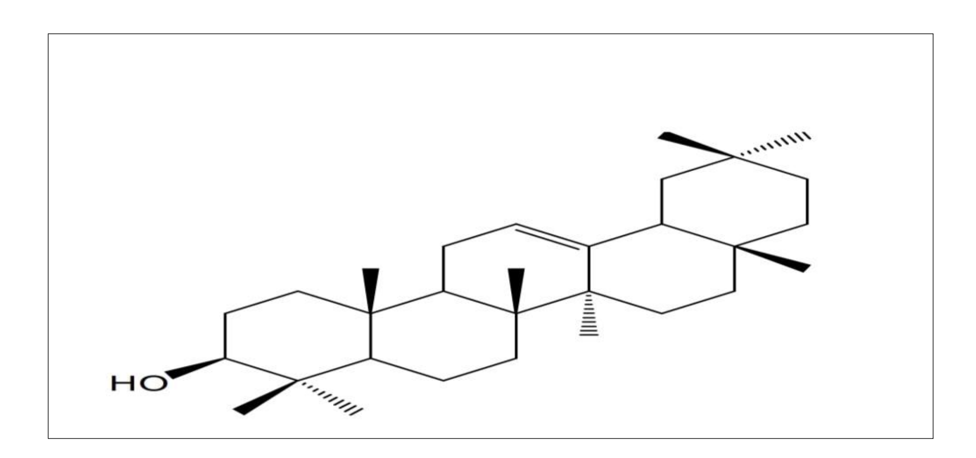
هي مستقلبات ثانوية غير متجانسة(BOUTAGHANE.,2014) وهي عبارة عن تربينات ثلاثية حقيقية في صورة غليكوزيدية (العابد.،2009) ،اسم صابونين مشتق من الكلمة اللاتينية Sapo التي تعني الصابون، لأن هذه المركبات ترغى عند تقليبها بالماء، وهي تتكون من أغليكون غير قطبي مرتبط بسكر أو أكثر، الرغوة التي تتشكل عند إختلاط الصابونين مع الماء ناتجة عن العناصر الهيكلية القطبية و الغير قطبية المتواجدة في جزيئات الصابونين (KADRI.,2017) .

2-2-3-2 تصنيفها:

يتم تصنيف الصابونوزيدات إلى مجموعتين حسب طبيعة الgénine التي يمكن أن تكون صابونوزيدات ثلاثية التربينويد أو صابونوزيدات ستيرويدية (BOUTAGHANE.,2014).

2-2-3-2-1 صابونوزيدات ثلاثية التربينويد:

تم العثور عليها بشكل رئيسي في كاسيات البذور و ثنائيات الفلقة و بعض الكائنات البحرية مثل نجم البحر، وهي فئة من المستقلبات الثانوية تتكون من 30 ذرة كربون عادة ما يحتوي هيكلها على خمس حلقات او اقل (BOUDJOUREF.,2011).

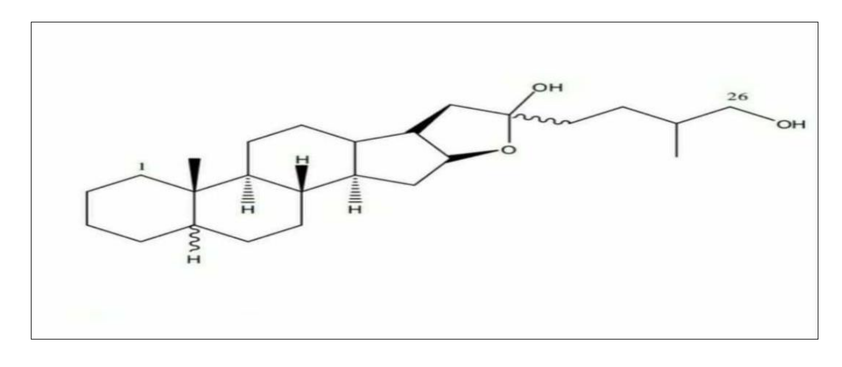


الوثيقة (16): توضح مثال عن صابونوزيدات ثلاثية التربينويد β-amyrine

(BOUTAGHANE.,2014).

2-2-3-2-2 صابونوزيدات ستيرويدية:

توجد في أحاديات الفلقة، تركيبها الكيميائي مشابه للهرمونات البشرية (BOUTAGHANE.,2014), تتكون من27 ذرة كربون عادة ما يحتوي هيكلها على ستة حلقات (BENCHARIF.,2014).



الوثيقة (17): توضح مثال عن الصابونوزيدات ستيرويدية Furostane (BOUTAGHANE.,2014)

3.2.3.2 الأهمية البيولوجية للصابونوزيدات:

تحتوي الصابونوزيدات على العديد من الخصائص حيث تتميز بطعمين الحلو و المر و كذلك خاصية الإستحلاب و ذلك بقدرتها على تشكيل الرغوة، و لها تأثيرات دوائية فهو يعمل كمسكن و مضاد للإكتئاب كما أن المستخلصات الميثانولية لبعض أنواع جنس Zygophyllym لها خصائص إنحلالية و أيضا أنشطة مضادة للميكروبات و المبيدات الحشرية، و قد تستخدم الصابونوزيدات في العديد من التطبيقات الموجودة في المشروبات و الحلويات،و كذلك مستحضرات التجميل و المنتجات الصيدلانية .(BENCHARIF.,2015)

الفصل الثالث:
الإجهاد التأكسدي والفعالية المضادة للأكسدة

1-الإجهاد التأكسدي Les Stress oxydatif :

تنتج الخلايا الجذور الحرة طبيعيا كجزء من المسالك الأيضية، و التي تعدل نشاطيتها بوجود نظام أنزيمي مضاد للأكسدة مثل: Superoxyde Dismutase ، Catalase، Glutathion Peroxidase و نظام لا إنزيمي مثل : الفيتامينات E و C و الفلافونيدات و غيرها من المواد الطبيعية (العجال.،2014) يعرف الإجهاد التأكسدي في النظام البيولوجي على أنه إختلال في التوازن بين مضادات الأكسدة و مولدات الأكسدة ، هذا الإختلال راجع إلى الإنتاج المفرط لمولدات الأكسدة و/أو نقص في مضادات الأكسدة . تسبب الجزيئات المؤكسدة أضرار خلوية و نسيجية غالبا ماتكون غير عكسية (بن سلامة.،2012).

1-1 الجذور الحرة Les Radicaux libres :

يتم تجميع الذرات في الجزيئات بروابط تساهمية بواسطة الكترونات حلزونية متعاكسة. لها ما يكفي من الطاقة لتمزيق هذه الروابط مؤديتا بذلك إلى ظهور وحدات كيميائية تمتلك إلكترونات غير زوجية في مدارها الخارجي. حيث يطلق على هذه الوحدات " الجذور الحرة " (MILANE.,2004)، يعرف الجذر الحر على أنه عبارة عن ذرة أو جزيئة حيادية أو مشحونة تحوى في مدارها الخارجي إلكترون غير متزاوج (VALKO *et al*.,2006)،كما يمكن أن تتواجد مستقلة. قد تكون مشتقة من الأكسجين مشكلة (ROS) أو من النيتروجين مشكلة (NOS). وجود الكترون وحيد في المدار الخارجي يجعل الجذور الحرة في حالة نشاط عالي مع نصف عمر قصير قد تكون هذه الانواع مؤكسدة (تكتسب إلكترون)أو مرجعة (تتخلى عن الكترون). عدم إستقرارية هذه الأنواع تجعل من الصعب ملاحضتها في الأوساط البيولوجية. (جرموني.،2009) . تعتبر بيوت الطاقة (الميتوكوندريا) داخل الخلية المصدر الرئيسي لإنتاج الجذور الحرة.(حوة.،2013). تتميز الجذور الحرة بقدرة عالية على إتلاف فوسفولبيدات الأغشية ،كما تسبب أضرارا على مستوى الجزيئات البيولوجية الكبيرة كالبروتينات والدهون ، السكريات و الأحماض النووية (لقرون.،2016).

2-1 أنواع الجذور الحرة:

تقسم الجذور الحرة حسب الإستقرار والنوع

1-2-1 التقسيم وفق الإستقرار:

تقسم الجذور الحرة حسب إستقرارها الى نوعين:

1-1-2-1 الجذورالنشطة (متفاعلة):

جذور حرة غير مستقرة وهي التي لها أعمار حياة قصيرة جدا تتراوح إلى المايكرو ثانية أو أقل وتصل حتى البيكوثانية. غير مستقرة في الظروف الإعتيادية من أمثلتها الهيدروجين،الكلور، الفلور والجذور التي لها وزن جزيئي منخفض (بالفار.،2018).

2-1-2-1 الجذور المستقرة (الصامدة):

مستقرة لها أعمار طويلة تقدر بالثواني أو بالدقائق، الساعات، الأيام مثل: جذور ثلاثي فينيل ميثيل (TP3M) و جذور ثنائي فينيل بكريل هيدرازين (DPPH) و جذور ثنائي فينيل و اكسيد النتريك (PH2NO) و مشتقاته (العجال.،2013).

2-2-1 التقسيم وفق النوع:

1-2-2-1 الجذور الحرة الأكسجينية:

يتم إنتاج العديد من المواد المؤكسدة القوية خلال عمليات الأيض في كل من الخلايا الدموية الحمراء و معضم خلايا الجسم الاخرى، و هذه المواد المؤكسدة تتضمن جذر فوق الاكسيد، جذر فوق أكسيد الهيدروجين، و جذورRadical pyroxyl، و جذر الهيدروكسيل (محمد بو عبد الله.،2011). قديكون جذر الهيدروكسيل أخطرها غير أن الجذرالحر له لايدوم فهو مرحلة إنتقالية عمرها قصير (حوة.،2013).

2-2-2-1 الجذور الحرة النتروجينية:

تشتمل على أكسيد النتريك و ثنائي أكسيد النتروجين و بيروكسيد النتروجين الهيدروجيني وبيروكسيد النتريت وهو الأكثر خطورة.

3-2-2-1 جذور السموم الحرة:

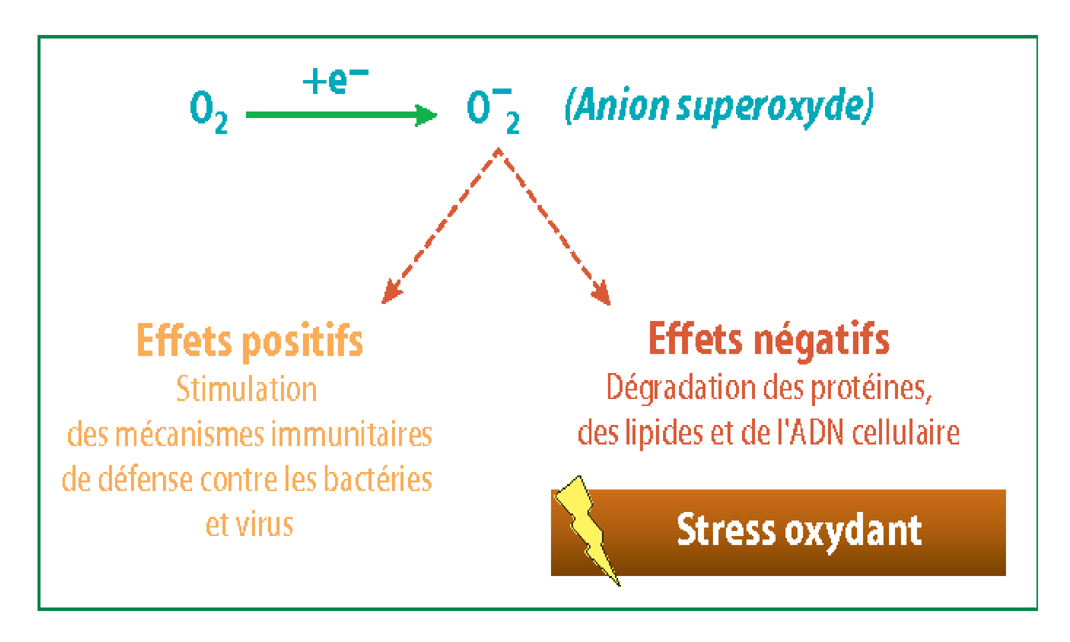
وهي معظم المواد السامة والمطفرات و المسرطنات الكيميائية (حوة.،2013).

4-2-2-1 الجذور الحرة الكبريتية:

أنواع الكبريت التفاعلية هي مجموعة من المركبات الكيميائية القائمة على الكبريت التي يمكنها أكسدة وتثبيط بروتينات الثيول والإنزيمات. كما تلعب أدوار مهمة في أنظمة الأكسدة المعتمدة على الكبريت، يعود أصل الأنواع الكبريتية المتفاعلة إلى تركيبها الأنزيمي أو الاستحاثات البيئية أو من خلال التفاعل الكيميائي الإضافي للأنواع النشطة مع جزيئات داخلية أخرى لتوليد أنواع تفاعلية جديدة، وقد يكون أصلها خارجي مثل غاز ثاني أكسيد الكبريت وكبريتيد الهيدروجين، ومن أمثلتها:Thiyl radical، Disulfide

1- 3أضرار الجذور الحرة :

تتشكل الجذور الحرة خلال العديد من التفاعلات المتدخلة في الآليات الفيزيولوجية كالسلسلة التنفسية الميتوكوندرية ،خلال البلعمة ، الإنقسام الخلوي ،الأكسدة الذاتية للعديد من الجزيئات الداخل خلوية (لقرون.،2016). تقوم هذه الأنواع الأكسجينية النشطة بالعديد من الأدوار الفزيولوجية فهي تحمي الجسم من الأمراض بمساعدة الجهاز المناعي ،تتدخل في نقل الإشارة الخلوية وتلعب دور أساسي في موت الخلايا ، إلا أنه يعتقد أن العديد من الأمرا ض مرتبطة بإرتفاع مستوى الجذورالحرة في الخلية.(اراتني.،2008). وهده الاضرار أساسها ثلاث إما ضرر واقع على الحامض النووي والذي يؤدي إلى طفرات تؤدي إلى موت الخلايا أوضعف المناعة ،إما ضرر واقع على البروتينات والذي يؤدي إل بتغيير طبيعة البروتينات ومن ثم تحويل في وظيفتها مؤديا بذلك إلى حدوث أمراض المناعة الذاتية ،وأخير ضرر واقع على الدهون أو الأكسدة الفوقية للدهون وهي الأخطر إذ تنتج عنها جذورلها شراهة تكسبها عمر أطول وإنتشارا أوسع مسببتا عموما خلايا سرطانية (حوة.،2013) .



الوثيقة (18): توضح تأثيرات الإجهاد التاكسدي **(JOANNY.,2005).**

1-3-1 أكسدة ADN:

تقوم الجذور الحرة بالتحريض على إحداث الطفرات و توقف تضاعف الحمض النووي، يمكن ان يكون الهجوم الجذري مباشرا و يؤدي إلى أكسدة القواعد الأزوتية للـ ADN مما يؤدي الى ظهور عدد كبير من القواعد المعدلة، و يمكنها ان تسبب ضرر غير مباشر باكسدة الليبيدات فينتج عنها الدهيدات مطفرة فتشكل إضافات على قاعدة guanine فيعطي MDA-guanine أو مشتقاته، كما يمكن أيضا للجذور الحرة مهاجمة البروتينات المتصلة بالـ ADN لحمايته (الهستونات، الانزيمات ، عوامل الإستنساخ) , المهاجمة الجذرية للرابطة الموجودة بين القاعدة و السكر مما يخلق موضع غير قاعدي (BOUDJOUREF.,2011).

2-3-1 أكسدة الليبيدات :

الشحوم هي المركبات العضوية الأكثر استهدافًا من قبل الجذور الحرة و مشتقاتها التفاعلية الأخرى ،و ينعكس هذا في إزدياد تضرر الأغشية الخلوية، وذلك من خلال تفاعل الاكسدة الفائقة للشحوم (Lipid Peroxidation) (رويدة و عماد.،1999). يمر تفاعل فوق أكسدة الليبيدات بثلاث مراحل هي الإبتدائية والإنتشار و المرحلة النهائية:

أ- المرحلة الإبتدائية:

يهاجم جذرالهيدروكسيل الجزيئات الدهنية فينزع ذرة هيدروجين من ذرات الكربون الواقعة بين

الروابط المزدوجة لتشكيل جذردهني ($L^\cdot$) يتفاعل هذاالجذر مع الأكسجين الجزيئي لإعطاء جذر البيروكسيل ($LOO^\cdot$) (جيدل.،2015).

ب- مرحلة الإنتشار:

يقوم جذر البيروكسيل بأخذ هيدروجين من جزيئة أحماض دهنية أخرى فيتحول إلى جذر آخر و هو الهيدروبيروكسيد (AYALA *et al.*,2014) .

ج- المرحلة النهائية:

يمكن لجذور الهيدروبيروكسيد الناتجة أن تخضع إلى عدة تغيرات فإما أن ترجع بواسطة إنزيم glutathion peroxydase و إما أن تواصل أكسدتها في وجود الأيونات المعدنية ويحدث لها تجزءا إلى أحماض ألدهيدية ، حيث التخلص منها عن طريق المسالك الرئوية .يمكن لجذر البيروكسيل بعد تحوله إلى بيروكسيد حلقي وقطع الجزيئة أن يحرر ألدهيدات سامة (جيدل.،2015).

3-3-1 أكسدة البروتينات:

تعتبر البروتينات من المكونات السائدة في الخلية لذا فهي هدف من أهداف الجذور الحرة إذ تطرأ على الجزيئات البروتينية تغيرات جوهرية من خلال تفاعلات الأكسدة التي تستهدف الأحماض الأمينية. ترتبط حساسية البروتينات تجاه الجذور الحرة مرتبطة بأنواع الأحماض الأمينية المكونة لها، حيث أن الأحماض الحاملة للوظيفة ((Thiol (SH) والأحماض الأمينية العطرية أكثر عرضة للأكسدة، بحيث تؤدي أكسدة مجاميع SH إلى تشكيل جسور ثنائية الكبريت، كما تؤدي التغيرات التأكسدية في الأحماض الأمينية العطرية إلى قطع السلاسل عديدات الببتيد. تؤدي أكسدة البروتينات إلى حجم مجموعة الأمين المؤينة أو إظهار المناطق الكارهة للماء المركزية، هذا التغيير يؤدي إلى تشكل كتل بروتينية-ليبيدية تعرف بـIpofuscins المميزة للأنسجة المسنة. كما أن البروتينات المتغيرة بالأكسدة تفقد نشاطها وخصائصها البيولوجية و تصبح أكثر عرضة للتحلل بواسطة الإنزيمات الحالة للبروتينات (حسن وإسراء.،2019).

2- مضادات الأكسدة Les Antioxydants :

1-2تعريف مضادات الأكسدة:

كثيرا ما نسمع مصطلح "المواد المضادة للألكسدة " ولكن الكثير منا لا يعلم بالضبط ما هي مضادات الأكسدة أو السبب في كونها غاية في الأهمية.

يمكن أن نعرف مضادات الأكسدة على أنها جزيئات بيولوجية قادرة بتراكيز ضعيفة على إلتقاط الجذور الحرة(بو بلوطة.،2009). بحيث أنها تمنع أو تأخر أكسدة المواد المتواجدة في الخلايا الحية كالبروتينات، الدهون، المركبات الهيدروكربونية و الأحماض النووية، و يمكن لمضادات الأكسدة أن تعمل بعدة أليات مختلفة التي يمكن أن تكون الحذف المباشر للأكسجين، صيد الأنواع الأكسجينية أو الأزوتية الفعالة NOS و ROS، تثبيط تكوين أنواع NOS و ROSإزالة الأيونات المعدنية الضرورية لتكوينROS أو حث الدفاع الداخلي المضاد للاكسدة (خطاف.،2011).

و تشتمل مضادات الأكسدة على مركبات داخلية المصدر ذات طبيعة إنزيمية مثل CAT،SOD،GPX و أخرى غير إنزيمية مثل GSH Réduit، و مركبات خارجية المصدر منها بعض الفيتامينات C،E و مركبات طبيعية مثل متعددات الفينول (بن مرعاش.،2012) .و مع أن ألية عمل مضادات الأكسدة غير واضحة بدقة إلأن البحوث العلمية و الدراسات الإحصائية أكدت على فاعليتها الوقائية من الأمراض و مقاومتها (العجال.،2013).

2-2 أقسام مضادات الأكسدة:

يمكن تصنيف مضادات الأكسدة إلى نوعين رئيسيين حسب مصدرها، مضادات الاكسدة الطبيعية ومضادات الأكسدة الإصطناعية (PAL *et al*.,2014).

1-2-2 مضادات الأكسدة الطبيعية:

و تنقسم إلى أنظمة إنزيمية و أخرى غير إنزيمية:

1-1-2-2 مضادات الأكسدة الإنزيمية :

يمتلك الجسم العديد من الإنزيمات المضادة للأكسدة بما في ذلك CAT وSOD و GPX (ALLI *et al*., 2014)

1-1-1-2-2- إنزيم فوق أكسيد الديسموتاز Superoxyde dismutase :

SOD هو أحد مضادات الأكسدة البيولوجية المهمة (HALLIWELL *et al*.,1986) ، و يتم تمييز ثلاثة أنواع لهذا الانزيم Cu/Zn-SOD1 و الذي يتواجد في السيتوزول ، Mn-SOD2 يتواجد في الميتوكندري، و Ec-SOD3 يتواجد في السوائل البيولوجية ، و يختلفون فيما بينهم بإختلاف توضع الكروموزومات في الجين، المحتوى المعدني ، البنية الرباعية لهم و توضعها الخلوي (HALENG *et al*.,2007) تقوم إنزيمات ال SODبإزالة أنيون Superoxyde بآلية التطافر(Dismutation) و هو أول نوع سام يتم تشكيلها إبتدءا من الأكسجين (عابد.،2011) . وذلك حسب التفاعل التالي:

$$2O_2^{-\bullet} + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$$

(FLORA.,2009)

2-1-1-2-2- إنزيم الكاتالاز Catalase:

يتكون هذا الإنزيم من أربع تحت وحدات، كل تحت وحدة تحتوي على مجموعة هيم مرتبطة بالموقع النشط (ODJIMA *et al*.,2010)، يتوزع هذا الإنزيم على نطاق واسع في الطبيعة(الحيوانات,النباتات) و جميع الكائنات الحية الدقيقة الهوائية (ARABACI et USLUOGLU.,2013) كما يتواجد في كل أعضاء الجسم ، ويتركز خاصة في الكبد وكريات الدم الحمراء و الكلى وبكميات قليلة في المخ والقلب و العضلات الهيكلية (عمر.،2009)، تـكمن الوظيّفة الأساسية لإنزيم الكاتالاز في حماية الأنسجة مـن الـتأثيرات السمية لبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) كـما تعـمل عـلى إزالة الاكترونات التـي تقـود إلـى إنتـاج (O2) (الأنباري و عبد الوهاب.،2011) .

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2$$

(FLORA.,2009)

Glutathion peroxydase (GR) Glutathion reductase, (Gpx) 3-1-1-2-2

ينتشر كل من (Gpx) و (GR) في كل مكان من الخلايا النباتية بما في ذلك السيتوزول و الميتوكوندري، و تعمل كإنزيمات مضادة للأكسدة و ذلك من خلال تحفيز إزاحة جذور الهيدروبيروكسيدات الدهنية و العضوية، يعمل إنزيم Glutathion Reductase كوسيط في إختزال GSSG إلى GSH بإستخدام NADPH كمانح الكتروني (ANJUM *et al*.,2012) .

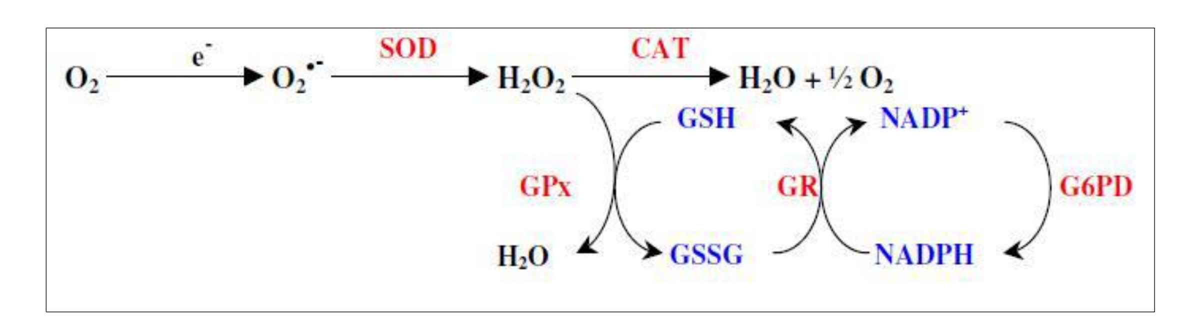
$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GP_x} GSSG + 2H_2O$$

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GP_x} GSSG + ROH + H_2O$$

(FLORA.,2009)

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

(KANOUN.,2011)



الوثيقة (19): توضحدور الإنزيمات المضادة للأكسدة في سير عملية تثبيط انيون فوق الاكسيد $O_2^{\bullet-}$
(KANOUN.,2011)

: Peroxiredoxine 4-1-1-2-2

يعبر أيضا عن Peroxiredoxine بإسم Thioredoxin (BAKER *et al*.,2001)، و قد تم تحديد فعلها المضاد للأكسدة حديثا، توجدأنواع منها عند الثديات و تتوضع في الميتوكوندري و السيتوزول . تتصل هذه البروتينات بالنواة والأغشية الخلوية، تقوم peroxiredoxine بتحويل كل من H_2O_2 و

$NO^{\cdot}$ و $ONOO^{-}$ و ذلك بفضل النشاطية peroxidase ، رغم فعاليتها الضعيفة مقارنة ب CAT و Gpx إلا أن هذه البروتينات تلعب دور كبير في التخلص من الهيدروبيروكسيدات و ذلك لكميتها المعتبرة, اذ تمثل 0.1-0.8 % من البروتينات الحرة الخلوية (بن سلامة.،2012).

2-2-1-2 مضادات الأكسدة غير الإنزيمية:

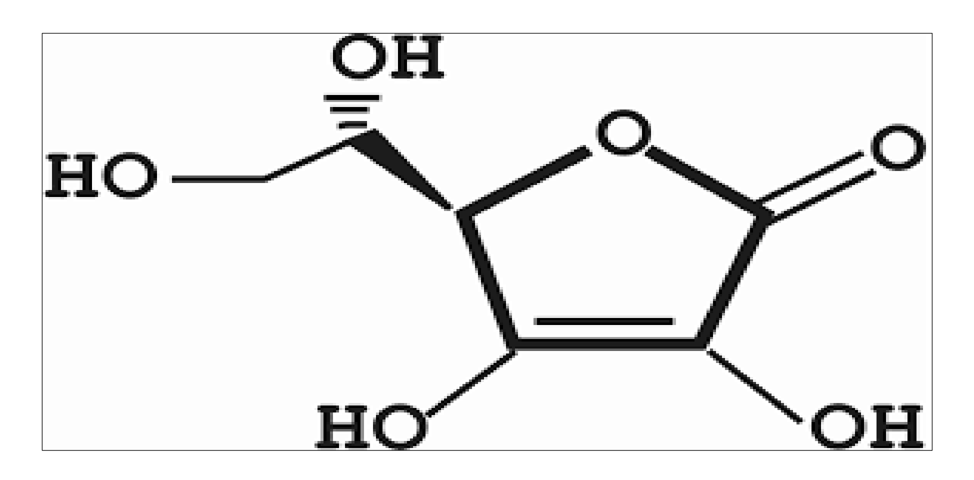
2-2-1-2-1 فيتامين (E) Vit :

يوجد فيتامين E في ثمانية أشكال إيزوميرية مختلفة من بنيتين فرعيتين (tocopherol) و (tocotrienol) ,α-tocopherol هوالشكل الأكثر نشاطًا منفيتامين E في البشر (FLORA.,2009)، الفيتامين E قابل للذوبان في الدهون مع العديد من الوظائف البيولوجية، يمتلك خصائص مضادة للأكسدة فعالة في الغشاء لمنع أكسدة الدهون عن طريق كسر سلسلة تفاعلات الجذور الحرة (FLORA.,2012).

الوثيقة (20): توضح البنية الكيميائية للمركب α-tocopherol(vitamine E) (GHAYATI.,2019)

2-2-1-2-2 فيتامين C Vit :

فيتامين C أو حمض الأسكوربيك(Ascobic acid)، هو أحد مضادات الأكسدة القابلة للذوبان في الماء الموجودة في العديد من النباتات. تم عزلها لأول مرة سنة 1928 من قبل الكيميائي الهنغاري (Szent Györgyi) و صيغته الكيميائية هي C6H8O6 .(EL-HADJELA.,2016). يقوم فيتامين C بمسح أنواع الأكسجين التفاعلية المائية (ROS) عن طريق نقل الإلكترونات السريع جدًا الذي يمنع بيروكسيد الدهون. بالإضافة إلى ذلك يعمل على تجديد الفيتامينE من صورته الجذرية (Tocopheroxyl) إلى صورته النشطة (FLORA.,2009) (α-tocopherol).



الوثيقة (21): توضح البنية الكيميائية للفيتامين C (Vit.C) (BOUBALI.,2017)

2-2-1-2-3 الجلوتاثيون Glutathion:

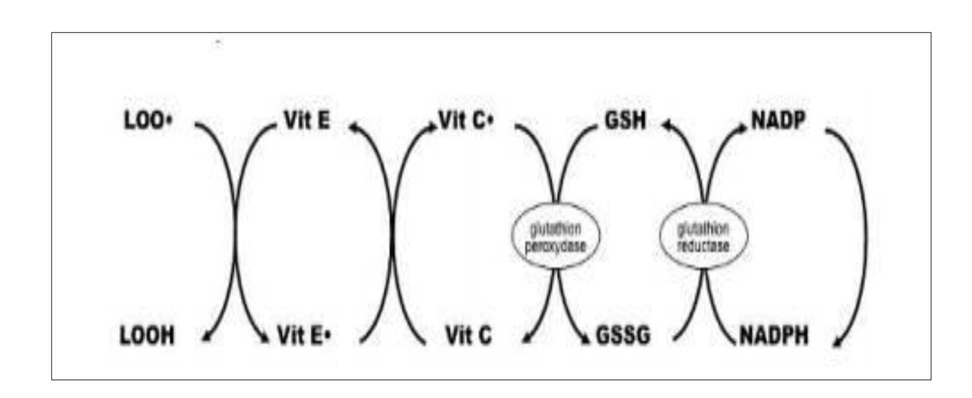
هو ببتيد قصير مكون من ثلاثة أحماض أمينية هي: الجلوتاميك Glutamic والسيستين Cystine والجلايسين Glycine. يوجد الجلوتاثيون في الأنسجة الحيوانية ويلعب دورامهماكمضادللأكسدة حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكون الجذور الحرة داخل الخلية، كما يحفز إختزال البيروكسيداز Peroxidase. يعادتكوينالجلوتاثيونالمختزل (GSH) من الجلوتاثيون المؤكسد GS2 بتحفيز إنزيم Glutathione reductase الذي يعتمد على تواجد NADPH وذلك كما يوضحه التفاعل التالي:

$$GSSG + NADPH + H^+ \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP^+$$

(KANOUN.,2011)

هناك العديد من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات Toxic electrophilic xenobiotics التي ترتبط مع GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد وبكميات أقل في الأنسجة الأخرى. إذا لم يتم إرتباط المواد الغريبة بالجلوتاثيون فإنها سترتبط مع (ADN) أو (ARN) أو بروتينات الخلية، مما ينتج عنه دمار خلوي كبير. ولهذا فإن للـ GSH دورامهما كآلة دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير والمواد المسرطنة (بو القندول،2011).

الوثيقة (22): توضح البنية الكيميائية لإنزيم (Glutathion)(GHAYATI.,2019)



الوثيقة (23): توضحألية التخلص من الجذور الليبيدية بواسطة Vit. Cو Vit. E و الجلوتاثيون(GHAYATI.,2019)

:β-Carotine 4 -2-1-2-2

بيتا كاروتين هو الرائد في مجموعة الكاروتينات التي تضم أكثر من 600 جزيء مختلفيتحول داخلالجسم إلى جزيئين من فيتامين A بعد تعرضه للتحلل المائي الكبدي (KIM.,2018) ، وهي عبارة عن أصباغ عضوية تنتج بشكل طبيعي في النباتات والطحالب وأنواع معينة من الفطريات وبعض البكتيريا, ولا يمكن للحيوانات و البشر تركيبها و يعتمدون في ذلك على تناول الاطعمة الغنية بها ,وهي المسؤولة عن اللون الأصفر والبرتقالي والأحمر للفواكه والخضروات، هي مضادات أكسدة قابلة للذوبان في الدهون يتمثل نشاطها في قدرة الرابطة المزدوجة المترافقة المتواجدة في هيكلها الخلوي على نقل الإلكترونات الفردية و إلتقاطها (KRIM.,2014).

الوثيقة (24): توضح البنية الكيميائية لمركب(β-Carotine(Vitamine A (GHAYATI.,2019)

2-2-1-2-5 متعددات الفينول Polyphenols :

عديدات الفينولات هي مركبات ناتجة عن الأيض الثانوي، ذات وزن جزيئي مرتفع.تتوزع على نطاق واسع في المملكة النباتية. الهيكل الأساسي الذي يميزها هو وجود حلقة أو عدة حلقات عطرية التي ترتبط مباشرة بجذر أو عدة جذور هيدروكسيلية حرة أو مرتبطة بوظائف أخرى (ether-ester). عديدات الفينولات عبارة عن مضادات الأكسدة الأكثر توفرا في الأغذية، فهي تملك خاصية مضادة للأكسدة قادرة على كبح الجذور الحرة المتولدة بإستمرار من قبل العضوية أو خارجها كعوامل بيئية (التبغ، التلوث، العدوى). ووفقا للباحثين فإن الفواكه و الخضراواتتلعب دور وقائي كبير ضد الأمراض الحديثة (أمراض القلب الوعائية والسكري) (BELKHIRI.,2009).

الأنثوسيانين و التانينات (الدباغ) و الفلافونيدات تتصدر عديدات الفينولات و التي تقوم بتلك الأدوار الوقائية (BOIZOT et CHARPENTIER., 2006).

2-2-2 مضادات الأكسدة الإصطناعية:

هي مضادات اكسدة تحضر و تستعمل تجاريا لحفظ المنتجات الطبيعية و كذا في الصناعة كصناعة المطاط و المشتقات البترولية (حوة.،2013)، كما تستخدم كمضافات غذائية لتأخير ظهور أو إبطاء وتيرة تفاعلات أكسدة الدهون في معالجة الطعام (MSAGATI.,2013). و من أمثلة هذه المواد التي تسمح القوانين الغذائية بإستخدامها و بتركيزات محددة :

- Butyl hydroxy anisole (BHA)
- Butyl hdroxy toluene (BHT)
- Gallate propylée (PG)
- Tetra- bulhydroquinon (TBHQ)
- التوكوفيرولات الطبيعية والصناعية

إذ يسمح بإستخدامها بتراكيز ضعيفة تكفي لمنع حدوث التزنخ (سعد أحمد سعد حلابو و آخرون.،2008)، يتم إستخدام هذه المركبات في صناعة الأغذية على نطاق واسع لأنها فعالة وأقل تكلفة من مضادات الأكسدة الطبيعية (WANG.,2003).

الوثيقة (25): توضح البنية الكيميائية لمركبات BHA و BHT (JAKUBCZYK et MICHALKIEWICZ.,2018)

الجزء التطبيقي

الفصل الأول:
الطرق والمواد
المستعملة

I- في الميدان:

1- منطقة الدراسة:

تم إختيار نبات *Neurada procumbens* L من منطقة الوادي التي تقع في الجنوب الشرقي من الجزائرالمحاذي للشريط الحدودي مع الجمهورية التونسية وتتربع على مساحة تقدربحوالي 44586.80 km^2 (شويخ.،2007) على إرتفاع 70 m على مستوى سطح البحر (BEGGAS.,1992) .

حيث تتميز المنطقة بمناخ صحراوي جاف وذلك نتيجة للعديد من العوامل ،كالموقع الجغرافي والإرتفاع على مستوى سطح البحر ، حيث تختلف دراجات الحرارة القصوى فيها حسب الفصول ، وتسود درجة الحرارة العالية فصل الصيف إبتداءا من أفريل وتدوم حتى نهاية سبتمبر، حيث يصل معدل الحرارة خلال هذه الأشهرالساخنة إلى 34 درجة مئوية (ضيف.،2014).

كما أن نسبة الهطولات في المنطقة ضعيفة و لاتتعدى 100 mm في السنة ، ومن أهم مميزاتها توزعها غيرالمنتظم خلال العام وكذا إختلاف كميتها من عام إلى آخر، وتربتها رملية فقيرة من العناصرالمعدنية بالإضافة إلى ضعف قدرتها على الإحتفاظ بها ،كما تحتاج دائما للمياه لسرعة فقدانه ورشحه، وفقيرة جدًا من المادة العضوية (حليس.،2005).

2- جمع وتحضير العيينة النباتية:

تم جمع العيينة النباتية في شهر ماي من سنة 2019 من منطقة حاسي خليفة شرق ولاية الوادي،والتي تبعد 30 km من مقر الولاية، بعد ذلك إتبعنا الخطوات التالية:

- قمنا بأخذ الجزء الهوائي من نبات *Neurada procumbens* L و تم غسله جيدا عدة مرات بالماء لإزالة جزيئات التربة و الشوائب العالقة
- تم تجفيف العيينات في الهواء الطلق في الظل و بعيدا عن أشعة الشمس
- بعد التأكد من الجفاف التام للعيينات قمنا بطحن الأوراق و الثمار كل على حدا بواسطة ألة كهربائية حتى تحصلنا على مسحوق جاف تم حفظه في علب زجاجية محكمة الغلق عاتمة بعيدا عن الحرارة و الرطوبة.





الوثيقة (26): توضح صور لأوراق وثمار نبات السعدان *Neurada procumbens* L





الوثيقة (27): توضح صور لأوراق وثمار نبات السعدان بعد عملية الطحن

II- في المخبر:

1. الأدوات و الأجهزة و المحاليل المستعملة:

لتحضير المستخلص النباتي، والكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي، التقدير الكمي لمحتوى كل من الفينولات والفلافونويدات، والنشاطية المضادة للأكسدة إستعملنا الأجهزة، الأدوات، والمحاليل الموضحة في الجدول التالي:

الجدول (3):يوضحالأدوات والأجهزة و المحاليل المستعملة أثناء العمل المخبري.

الأدوات	المحاليل و المواد	الأجهزة
تحضير المستخلص النباتي		
بيشر Becher ملعقة Spatule ورق ترشيح قمع	المادة النباتية إيثانول Ethanol ميثانول Méthanol	ميزان Balance جهاز التبخير الدوراني Rotavapor
الكشف الكيميائي عن نواتج الايض الثانوي		
أنابيب إختبار زجاجية بيشر Becher ملعقة Spatule حامل أنابيب اختبار أنبوب اختبار مدرج Pipette	مستخلصات نباتية إيثانول Ethanol كاشف وينر ماء مقطر حمض الخليك الثلجي Anhydride acétique كلوروفورم حمض الكبريت H2SO4 كلوريد الحديد الثلاثي FeCl3 هيدروكسيد الصوديوم NaoH كاشف فهلنج Fehling de liqueur	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي موقد حراري (حمام مائي)
التقدير الكمي لمحتوى الفينولات		

أنابيب اختبار زجاجية حامل انابيب الاختبار Micropipette بيشر Becher ملعقة Spatule ورق المنيوم Papier aluminium أنبوب إختبار مدرج	مستخلصات نباتية إيثانول Ethanol Folin-Ciocalteau كربونات الصوديوم Na_2Co_3 حمض الغاليك ماء مقطر L'eau distillée	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
التقدير الكمي للفلافونويدات		
أنابيب إختبار زجاجية بيشر Becher ملعقة Spatule حامل أنابيب اختبار أنبوب إختبار مدرج Pipette	مستخلصات نباتية إيثانول Ethanol $AlCl_3$ الكرسيتن	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
التقدير الكمي للتانينات المكثف		
أنابيب اختبار زجاجية بيشر Becher ملعقة Spatule حامل أنابيب اختبار أنبوب إختبار مدرج Micropipette	المستخلصات النباتية الفانيلين (vanillin) حمض الكلور المركز HCl	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)
تقديرا النشاطية المضادة للاكسدة		

<table>
<tr><td>أنابيب اختبار زجاجية
Becher بيشر
Spatule ملعقة
حامل أنابيب اختبار
أنبوب إختبار مدرج
Micropipette
(Papier ورق الألمنيوم
aluminium)</td><td>مستخلصات نباتية
DPPH
Methanol ميثانول
حمض الاسكوربيك</td><td>ميزان حساس
جهاز الرج المغناطيسي
جهاز المطيافية الضوئية
(Spectrophotomètres)</td></tr>
<tr><td colspan="3">تقدير النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)</td></tr>
<tr><td>أنابيب إختبار
بيشر
حامل أنابيب اختبار
Micropipett
Les cuves</td><td>المستخلصات النباتية
كريات دم حمراء بشرية
بيروكسيد الهيدروجين
(30 Mm) H_2O_2
ثلاثي كلوريد الحديد
$FeCl_3$ (80 mM)
حمض الاسكوربيك
(50mM)
ماء مقطر</td><td>ميزان حساس
جهاز الرج المغناطيسي
جهاز الطرد المركزي
Etuve
جهاز المطيافية الضوئية
(Spectrophotomètres)</td></tr>
<tr><td colspan="3">إختبار القدرة الإرجاعية FRAP</td></tr>
</table>

أنابيب إختبار بيشر حامل أنابيب اختبار Micropipette Les cuves	محلول فريسيانيد البوتاسيوم $K_3Fe(CN)_6$ حمض الخل ثلاثي الكلوريد (TCA) كلوريد الحديد ($FeCl_3$) ماء مقطر	ميزان حساس جهاز الرج المغناطيسي جهاز الطرد المركزي Etuve جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètres)

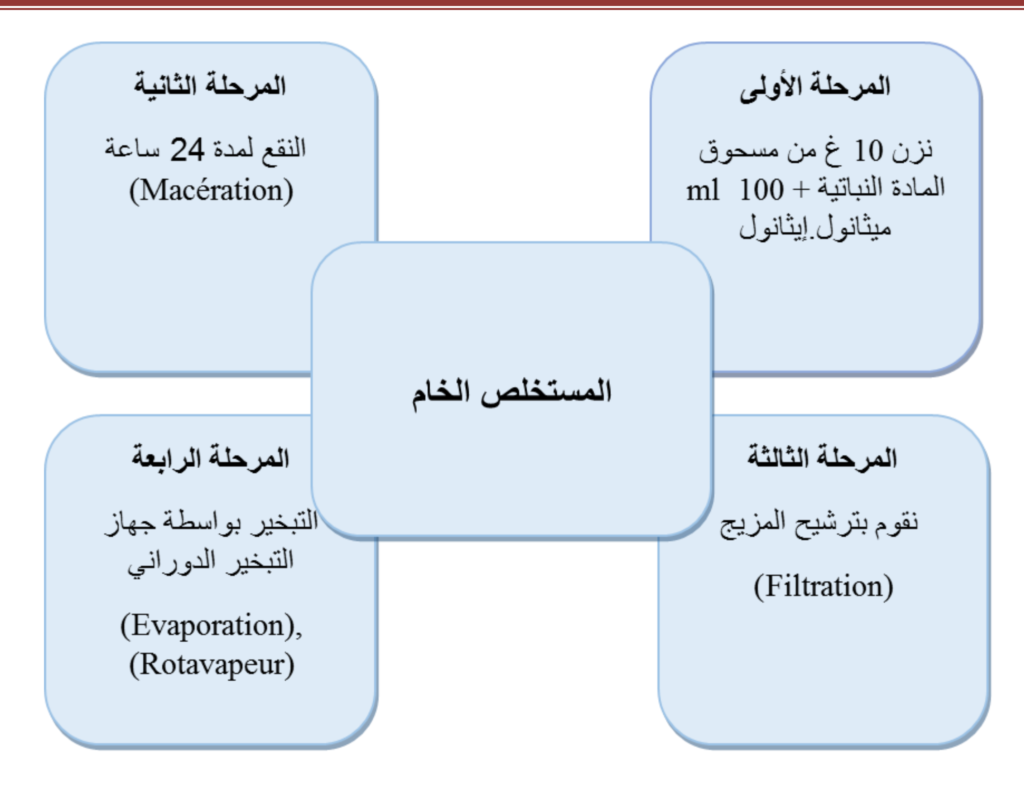
2- تحضير المستخلص النباتي:

قمنا في هذا البحث باستخدام الإيثانول و الميثانول للاستخلاص بهدف المقارنة بين المذيبين، وذلك بإستخدام طريقة الاستخلاص بالنقع، و هي أبسط طريقة استخلاص صلب سائل، وتكون بتلامس المادة النباتية مع المذيب مع أو بدون تقليب(LEBROS et FREMEAUX.,1990).

قمنا بنقع 10 g من المادة الجافة في 100 ml من المذيب (ايثانول أو ميثانول) (70%), يترك المزيج لمدة 24 ساعة، يرشح المزيج ثم ينقل الى جهاز المبخر الدوراني Rotavapeur عند درجة حرارة 50-40°C للتخلص من المذيب و الحصول على المستخلص الجاف. حيث يقدر المردود بالعلاقة التالية:

المردود=(وزن المستخلص/وزن المادة النباتية الابتدائية الجافة)×100

(MATKOWSKI et PIOTROWSKI.,2006)



الوثيقة (28): مخطط يوضح الإستخلاص (النقع)

3- الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية:

وهي جملة من الإختبارات و ذلك لتحديد و حصر مختلف المواد الفعالة التي يحتويها النبات :

✓ **الكشف عن القلويدات (Les Alcaloides):**

- نحضر أنبوبي اختبار نضع في كليهما 1mlمن المستخلص الإيثانولي ثم نضيف لكل أنبوب 5قطرات من كاشف وينر wagner

ظهور راسب بني يدل على وجود القلويدات(AZZI.,2013).

✓ **الكشف عن الصابونوزيدات: (Les Saponosides)**

- يتم تحضير مغلي من النبات وهذا بوضع 2g من المادة النباتية الجافة مع 100 ml من الماء المقطر ثم يتم تسخينه لمدة 10 دقائق على درجة حرارة 100 م ونقوم بتبريد وتصفية المغلي ثم نقوم برج الأنبوب لمدة 15 ثانية (DAHOU *et al*.,2003).
- ظهور رغوة وبقائها لمدة 20 دقيقة يدل على وجود الصابونوزيدات.

- **الكشف عن التانينات :(Les Tanins)**

– نضع في أنبوب إختبار 2ml من المستخلص و نضيف له 0.4 ml من محلول كلوريد الحديد الثلاثي FeCl3 المخفف (1%)

– ظهور لون أزرق مسود يدل على وجود tanins gallique

– ظهور لون أزرق مخضر يدل على وجود tanins cathéchique (TREASE et EVANE.,1987).

- **الكشف عن الفلافونويدات :(Les Flavonoides)**

يتم الكشف عن الفلافونويدات بمزج 2 ml من المستخلص الايثانولي من 1 ml من هيدروكسيد الصوديوم NaoH بتركيز 0.5 مولاري ، فإذا لاحظنا ظهور اللون الأصفر فهذا دليل على وجود الفلافونويدات في العينة النباتية (نعمة و أخرون.،2007).

- **الكشف عن المركبات المرجعة :(Les composée Réducteurs)**

نضع في أنبوب إختبار 2 ml من المستخلص و نضيف له 1ml من محلول فهلنج و نقوم بتسخين المزيج في حمام مائي Bain marie عند ظهور راسب أحمر أجوري دليل على وجود المركبات المرجعة في النبات (TREASE et EVANE.,1987).

- **الكشف عن الستيرولات و التربينات (Les Stérols et Triterpène):**

❖ **إختبار :Liberman – Bucharis**

نضع في بيشر 10 ml من المستخلص ثم نتركها تتبخر كليا و بعدها نضيف لها 5 ml من حمض الخليك الثلجي و 5 ml من الكلوروفورم و بواسطة ماصة Pipette نضيف و بحذر على حافة الأنبوب 1 ml من حمض الكبريت H2S4 و ننتظر 30 دقيقة.

ظهور حلقة حمراء بنية في منطقة المماس بين المحلولين يدل على وجود الستيرولات و التربينات (TREASE et EVANE.,1987).

4- التقدير الكمي للمركبات الفينولية :

✓ تقدير الفينولات الكلية Dosage des Polyphénols (PPT) :

تم تقدير محتوى المركبات الفينولية الكلية في مختلف المستخلصات بإستعمال Folin-Ciocalteau حسب طريقة SINGLETON و آخرون (1999) حيث تعطي هذه المركبات لونا أزرقا بإرتباطها مع حمض phosphomolybdic – phosphotungstic الذي يتم قياس إمتصاصيته عند طول موجة 765 nm.

❖ الخطوات العملية للتقدير:

- وضع 0.2 ml من سلسلة المحلول القياسي المحضرة و أيضا من المستخلصات في أنابيب زجاجية.
- إضافة 1ml من محلول Folin-Ciocalteau المخفف 10 مرات.
- ترج الأنابيب جيدا،و تحضن في درجة حرارة المخبر لمدة 5 دقائق.
- إضافة 0.8 ml من كربونات الصوديوم Na_2Co_3 بتركيز (20%).
- نرج و نترك الأنابيب في درجة الأنابيب في درجة حرارة المخبر في الظلام لمدة 30 دقيقة.
- نقيس إمتصاصية المزيج عند طول الموجة 765 nm في جهاز المطيافية الضوئية.

كما تم تحضير المنحنى القياسي لحمض الغاليك و ذلك بإذابة 8mg من هذا الحمض في 2 ml من ماء المقطر للحصول على محلول ذو تركيز4000 µg/ml و منه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيز µg/ml (5، 62، 125، 250) ثم معاملة الأنابيب بنفس الخطوات السابقة لتقدير المحتوى الفينولي، بعد ذلك قراءة شدة الإمتصاصية بجهاز المطيافية و رسم المنحنى القياسي للتراكيز بدلالة شدة الإمتصاصية الذي يعبر عنه بمعادلة خطية التي تحدد تراكيز المحتوى الفينولي في عينة (بوحدة mg/gمن المادة الجافة لحمض الغاليك).

✓ تقدير الفلافونويدات Dosage des Flavonoides (FV):

تم تقدير كمية الفلافونويدات الكلية في المستخلصات حسب طريقة ORDONEZ وأخرون (2006) بإستعمال ACl_3 حيث يشكل هذا الأخير معقدات مع الفلافونويدات ذات اللون الأصفر، يتم قياس كمية هذه المعقدات لونيا بإستعمال جهاز المطيافية الضوئية عند طول موجة 420 nm.

❖ **الخطوات العملية للتقدير:**

- أخذنا 1 ml من كل مستخلص و نضيف لها 2 ml من محلول ACl3 ذو تركيز (2%) المذاب في الإيثانول.
- نرج الأنابيب وتحضن في درجة حرارة المخبر لمدة ساعة واحدة.
- نقوم بقياس الإمتصاصية في طول موجة 420 nm.

كما تم تحضير المنحنى القياسي للكرسيتين و ذلك بإذابة 5 mg من هذا الحمض في 10 ml من الميثانول للحصول على محلول ذو تركيز 500µg/ml ومنه تم تحضير سلسلة المحلول القياسي ذو التراكيزµg/ml (0 ،25 ،50، 100 ،150) ثم معاملة الأنابيب بنفس الخطوات السابقة لتقدير محتوى الفينولات بعد ذلك قراءة شدة الإمتصاصية بجهاز المطيافية و رسم المنحنى القياسي للتراكيز بدلالة شدة الإمتصاصية الذي يعبر عنه بمعادلة خطية التي تحدد تراكيز تراكيز الفلافونويدات في كل عينة (بوحدة mg/g من المادة الجافة المكافئة للكرسيتين).

✓ **تقدير التانينات :Dosage des tanins condensés (TC)**

حسب SUN*et al* ، تم تقدير التانينات بواسطة الفانيلين (vanillin) حيث قمنا بمزج 50µl من المستخلص النباتي مع 3 ml من الفانيلين (4%) ، ثم أضفنا 1.5 ml من حمض الكلور المركزHCl، تركنا المزيج لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة المخبر ، ثم قمنا بقياس الإمتصاصية الضوئية بواسطة جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre) على طول موجة 500nm (MEDINI *et al.*,2014).

5- تقدير الفعالية المضادة للاكسدة(AAO) :

1-5 إختبار: DPPH

هو إختبار مضاد للجذور الحرة سبق تعريفه من 50 سنة ماضية من طرف Blois سنة 1985،هذا الإختبار يعتمد على تثبيط الجذر الحر DPPH و ذلك إعتمادا على قابلية إعطاء المركبات (مضادات الأكسدة) لذرة الهيدروجين أو إلكترون حيث يمكن تتبع عملية إرجاع جذر DPPH لونيا بإستعمال جهاز المطيافية الضوئية و ذلك بقياس مقدار الإنخفاض في الإمتصاصية ، هذا الإنخفاض في الإمتصاصية يمكننا من معرفة قدرة و كفاءة المركبات من تثبيط الجذور ، و يعتمد هذا الإختبار على قدرة المستخلص على الجذر المستقر بعد مدة زمنية قدرها 30 دقيقة ، و يظهر ذلك من خلال التفاعل اللوني للجذر DPPH˙ ذو اللون البنفسجي الذي يتحول إلى DPPH-H ذو اللون الأصفر .

الوثيقة (29):تفاعل مضادأكسدةمعجذرثابتDPPH (سبوعي ودركي, 2018.)

- يعبر عن النشاط المضاد للأكسدة لكل مستخلص بقيمةIC_{50} و هي تركيز المادة القادرة على تثبيط 50% من جذر DPPH و يتم حسابها بتطبيق المعادلة الخطية لمنحنى تغير نسبة التثبيط (I%) بدلالة التراكيز المختلفة للمستخلصات النباتية (بن عربية،2013).

❖ طريقة العمل :

- نقوم بتحضير محلولDPPH وذلك بإذابة 4 ملغ من مسحوق DPPH في 100 ml من الميثانول للحصول على تركيز 0.1 mmol/L.
- نقوم بالرج جيدا بجهاز الرج المغناطيسي قبل إستعماله في دراسة النشاطية المضادة للأكسدة .
- نقوم بتحضير مجموعة من التراكيز لمختلف المستخلص (1000µg/ml، 500µg/ml، 250µg/ml ،125µg/ml، 65.5µg/ml ،32.75µg/ml، 16.5µg/ml)
- أخذ 0.2 ml من كل تركيز و نضيف له 0.8 ml من محلول DPPH
- يرج جيدا و يترك في الظلام مدة 30 دقيقة في درجة حرارة المخبر.
- نقيس الإمتصاصية عند طول موجة 517 nm بواسطة جهاز قياس المطيافية الضوئية .

و من خلال النتائج نقوم بحساب النسبة المئوية للتثبيط I% و ذلك وفق المعادلة التالية :

$$I\% = (A0 - Ai/A0) \times 100$$

A0 : إمتصاصية DPPH في غياب المستخلص

Ai : إمتصاصية DPPH في وجود المستخلص بعد 30 دقيقة

ثم نقوم برسم المنحنى البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز $I\% = f(C)$

2-5 إختبار النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء: (Hémolyse)

تم إختبار النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (hémplyse) حسب (ABIRAMI *et al* 2014) بأخذ كمية من الدم من شخص بالغ و نخضعها لعملية الطرد المركزي، نأخذ كمية من كريات الدم الحمراء قدرها 40 μ l ثم نقوم بإضافة 2 ml من المستخلص النباتي المدروس بتركيزات مختلفة (0.2 mg/ml و 0.8 mg/ml و 1.6mg/ml و 1.8 mg/ml و 2 mg/ml) والماء المقطر لإحدى العينات كشاهد ، ثم يتم حفضها في درجة حرارة 37ºC لمدة 5 دقائق ثم نضيف لهاμl 40 من بيروكسيد الهيدروجين H2O2بتركيز 30 mM و 40 µl من كلوريد الحديد الثلاثي FeCl3 بتركيزMm 80 و 40 µl من حمض الأسكوربيك بتركيز 50 mM ويترك محضونا لمدة ساعة في درجةحرارة 37ºC، ومن ثم نقوم بإخضاعها لعملية طرد مركزي لمدة 10 دقائق (700 tours/min) .

ثم يقرأ في جهاز الإمتصاصية الضوئية (Spectrophotomètre) عند طول موجة λ=540nm و تحسب نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء وفقا للقانون الآتي :

$$\% \text{ Hémolyse} = [\text{Abs}_{\text{contrôle}} / \text{Abs}_{\text{échantillon}}] \times 100$$

حيث:

- Abs contrôle:شدة إمتصاص الخليط في غياب المستخلص النباتي
- Abs échantillon: شدة إمتصاص الخليط في وجود المستخلص النباتي

3-5 إختبار القدرة الإرجاعية للحديد (FRAP):

تحدد القدرة الإرجاعية للمستخلصات حسب طريقة (OYAIZU.M.,1986) تتفاعل المستخلصات التي تمتلك قدرة على الإرجاع مع فريسيانيد البوتاسيوم $K_3Fe(CN)_6$ لتشكيل فيروسيانيد البوتاسيوم $K_4Fe(CN)_6$، يتفاعل هذا الأخير مع كلوريد الحديد لإعطاء مركب يمتص في طول موجة 700 nm.

- عمليا يمزج 50µl من المستخلصات ذات تراكيز مختلفة (1mg\ml , 0.5mg\ml , 0.25mg\ml , 0.125mg\ml, 0.0625mg\ml, 0.03125mg\ml) مع 200µl من المحلول المنظم فوسفات (PH=6.6) و 250µl من محلول فريسيانيد البوتاسيوم $K_3Fe(CN)_6$ (1%)، بعد فترة حضن لمدة 20 دقيقة بدرجة حرارة 50 درجة مئوية في الحاضنة (etuve)، يضاف للمزيج 250µl من حمض الخل ثلاثي الكلورور (TCA) (10%) و 200µl من الماء

المقطر و 50µl من من كلوريد الحديد $FeCl_3$(0.1%)، ثم تقاس الإمتصاصية عند طول موجة 700 nm.

الفصل الثاني
النتائج والمناقشة

I- النتائج:

1- نتائج الإختبارات الفيتوكيميائية الأولية:

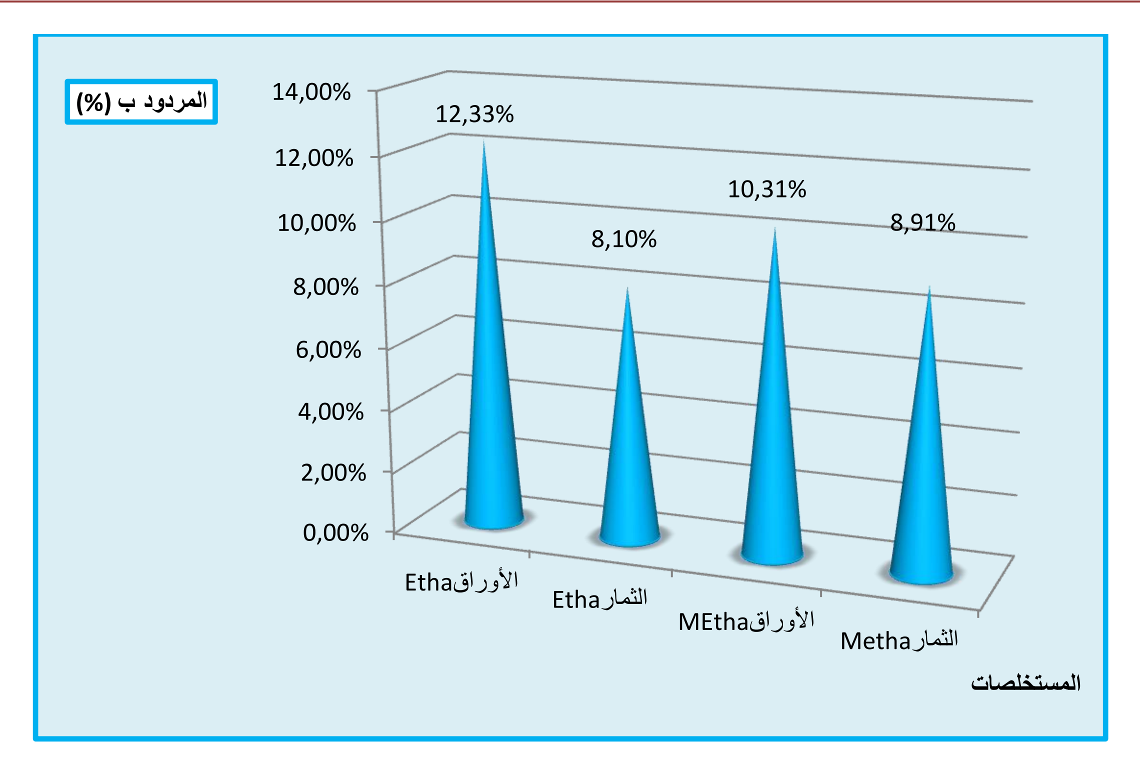
الجدول (4): يوضح نتائج الكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي لنبات السعدان.*Neuradaprocumbens* L

مركبات الأيض الثانوي	الأوراق	الثمار
التانينات (Les Tanins)	+	+
الصابونوزيدات (Les Saponosides)	-	-
الفلافونويدات (Les Flavonoides)	+	+
المركبات المرجعة (Les Composée Réducteur)	-	-
الستروبلات و التربينات (Les Stérols et Triterpènes)	+	+
القلويدات (Les Alcaloides)	-	-

من خلال الجدول (2) يتضح لنا أن المستخلص الإيثانولي والميثانولي لأوراق وثمار نبات السعدان يحتوي على التانينات، الفلافونويدات، الستروبلات والتربينات و التي أعطت نتائج موجبة للكشف، فيما أعطت الصابونوزيدات، المركبات المرجعة، القلويدات نتائج سالبة مع الكواشف هذا دليل على غياب المركبات.

2- حساب المردود لمستخلص نبات.:*Neurada procumbens* L :

بعد عملية الإستخلاص بطريقة النقع بإستخدام الميثانول و الإيثانول كمذيبين، تم تقدير المردود اعتمادا على العلاقة المذكورة عند (MATKOWSKI et PIOTROWSKI.,2006)و كانت النتائج كما هي موضحة في الشكل(01).

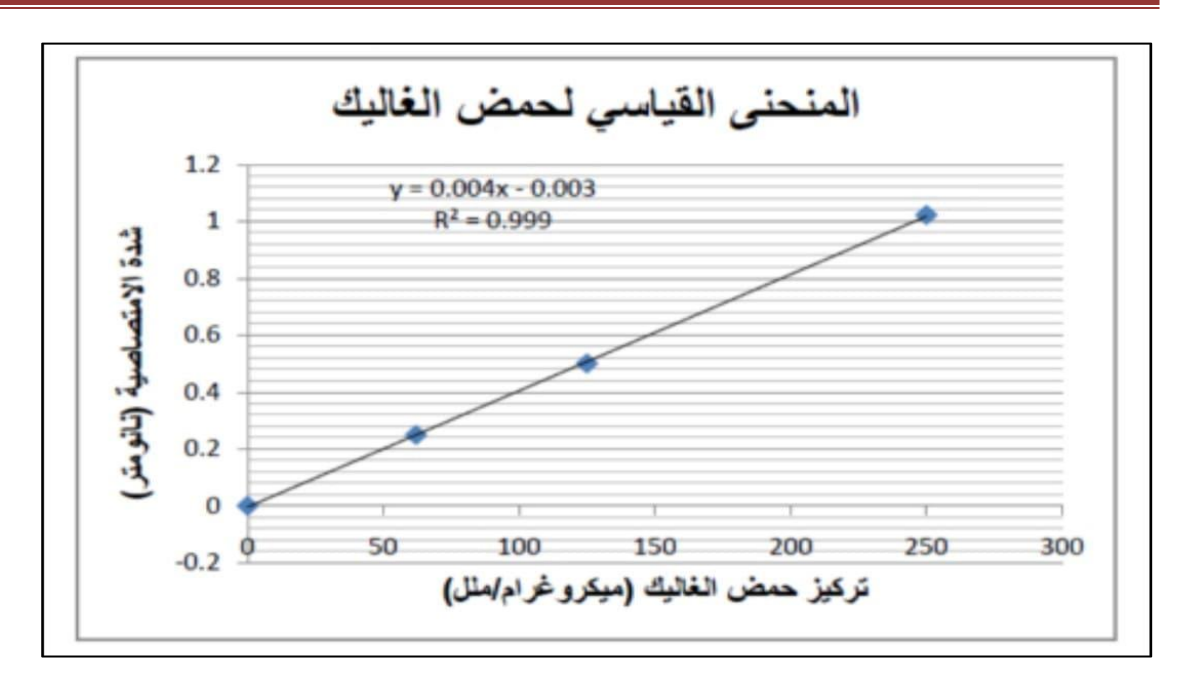


الشكل (01) : مردود المستخلصات الميثانولية و الإيثانولية لنبات السعدان *Neurada procumbens.* L.

أظهر تقدير مردود الاستخلاص لأوراق وثمار نبات السعدان تفوق الأوراق على الثمار بمتلاكها أفضل مردود في كلا المذيبين الميثانول و الإيثانول ،حيث أن مستخلص الأوراق الإيثانولي سجل أعلى مردود بنسبة قدرت ب 12.33% في حين سجل مستخلص الأوراق الميثانولي نسبة قدرها 10.31%، أما مستخلصي الثمار الميثانولي و الإيثانولي فكانت النسب المسجلة متقاربة، حيث قدرت ب 8.91% و 8.10% على التوالي.

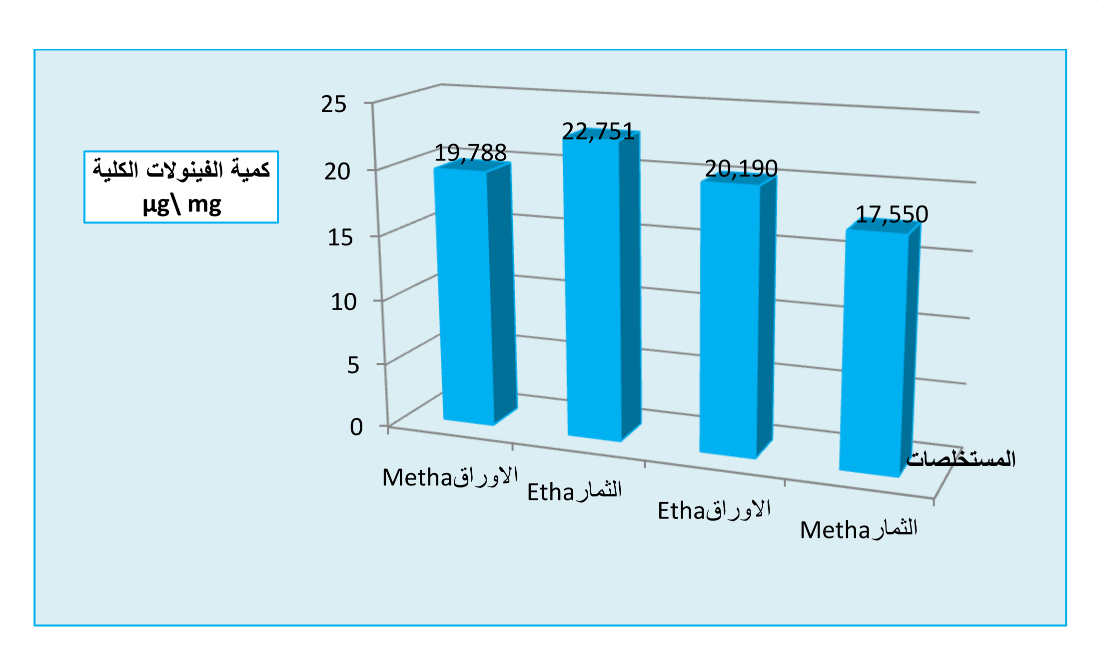
3-التقدير الكمي للفينولات :(PPT)

تم تقدير محتوى المركبات الفينولية الكلية لنبات السعدان (*Neurada procumbens* L) و ذلك بالإعتماد على طريقة SINGLETON et ROSSI ، حيث يعبر كميا على المحتوى الكلي للفينولات بإستخدام المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لحمض الغاليك (Acide Gallique) الوثيقة (30)-



الوثيقة (30): توضح المنحنى القياسي لحمض الغاليك

تقدر كمية عديدات الفينول للمستخلصات بالميكروغرام (ug) المكافيء لحمض الغاليك على الميليغرام (mg) من كتلة المستخلص (ug AG eq / mg d'extrait) ، كما هو موضح في الشكل (02) :



الشكل (02):توضح مخطط بياني لقيم الفينولات المقدرة عند مستخلصات نبات السعدان

(*Neurada procumbens* L)

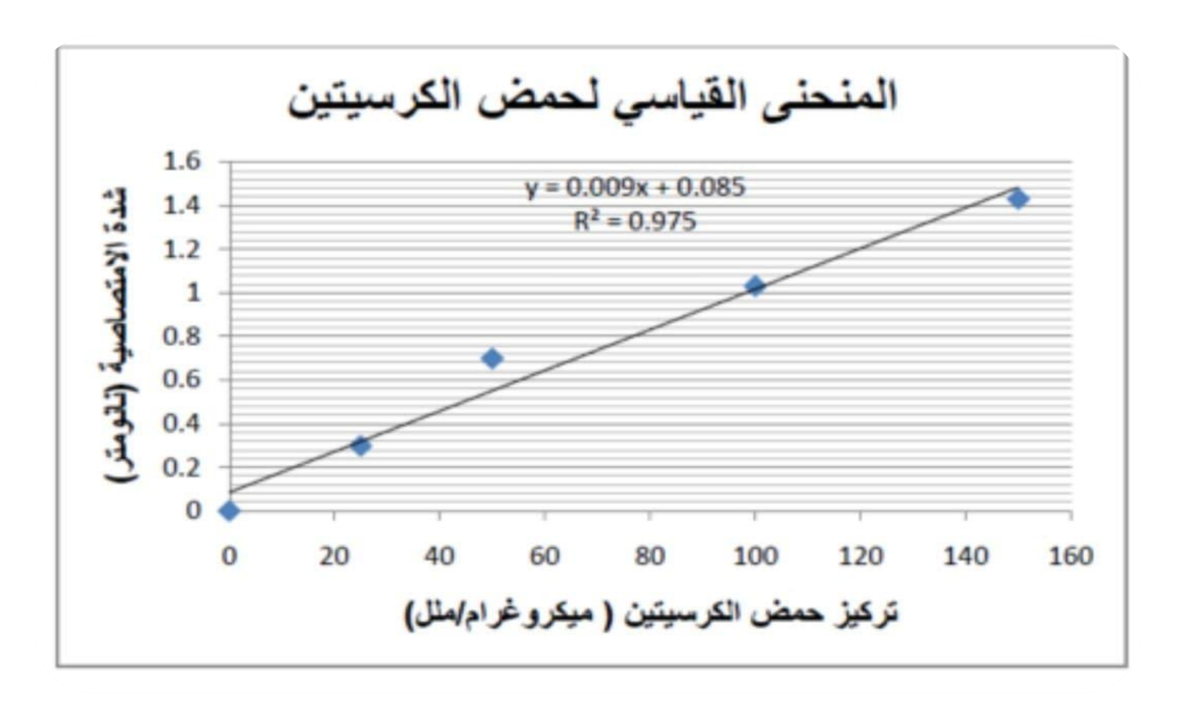
من خلال النتائج المدرجة في الشكل (02) نلاحظ تقارب في محتوى عديدات الفينول عند

المستخلصات الأربعة، فالقيم عند المستخلصات الإيثانولية قدرت بـ ug AGE/ mg (1.820 ± 22.751EX) و ug AGE/ mg EX (20.190 ± 0.812) للثمار و الأوراق على التوالي،

فهي بذلك تفوق المحتوى الفينولي عند المستخلصات الميثانولية و الذي بلغ عند الأوراق ug AGE/ mg EX (1.902 ± 19.788) تليها الثمار بـ ug AGE/ mg EX (0.596± 17.550)

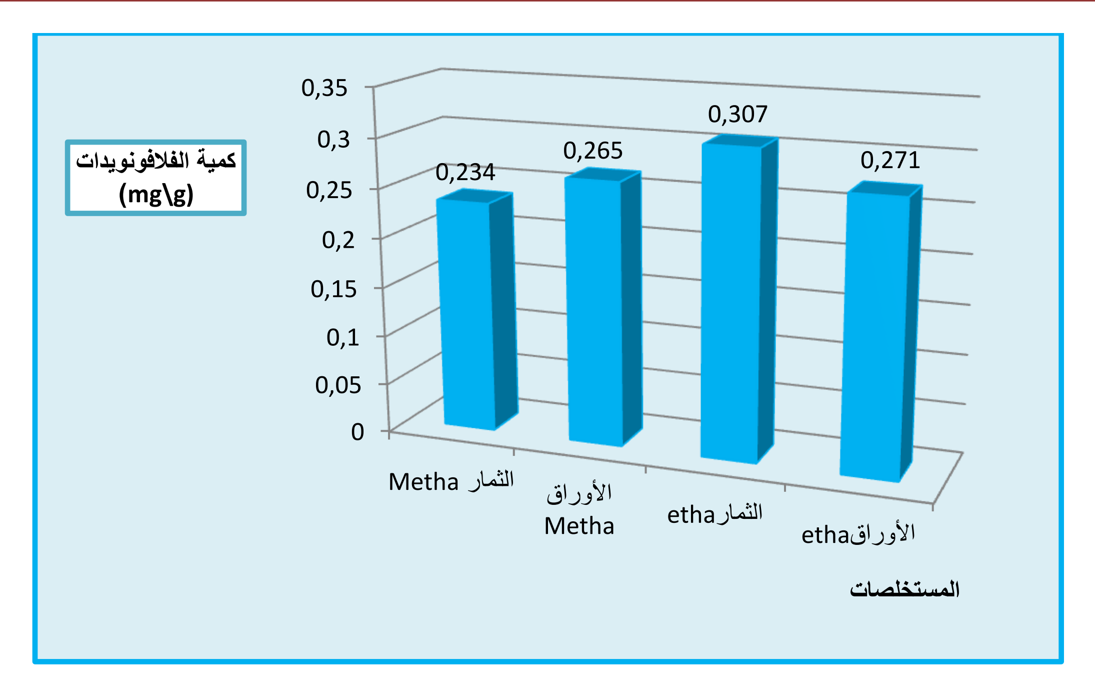
4- التقدير الكمي للفلافونيدات :(FV)

تم التقدير الكمي للفلافونيدات في نبات السعدان وفقا للطريقة المذكورة عند. ORDONEZ *et al* 2006) بإستعمال الكاشف AlC_3 ، حيث يعبر كميا على المحتوى الكمي للفلافونيدات بإستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي لإمتصاصية الكرسيتين المدرج في الوثيقة (31).



الوثيقة (31): توضح المنحنى القياسي لحمض الكرسيتين

تقدر كمية الفلافونيدات للمستخلصات بالميليغرام (mg) المكافىء لحمض الكرسيتين على الغرام (g) من كتلة المستخلص الجاف (mg AG eq / g d'extrait) ، كما هو موضح في الشكل (03) :



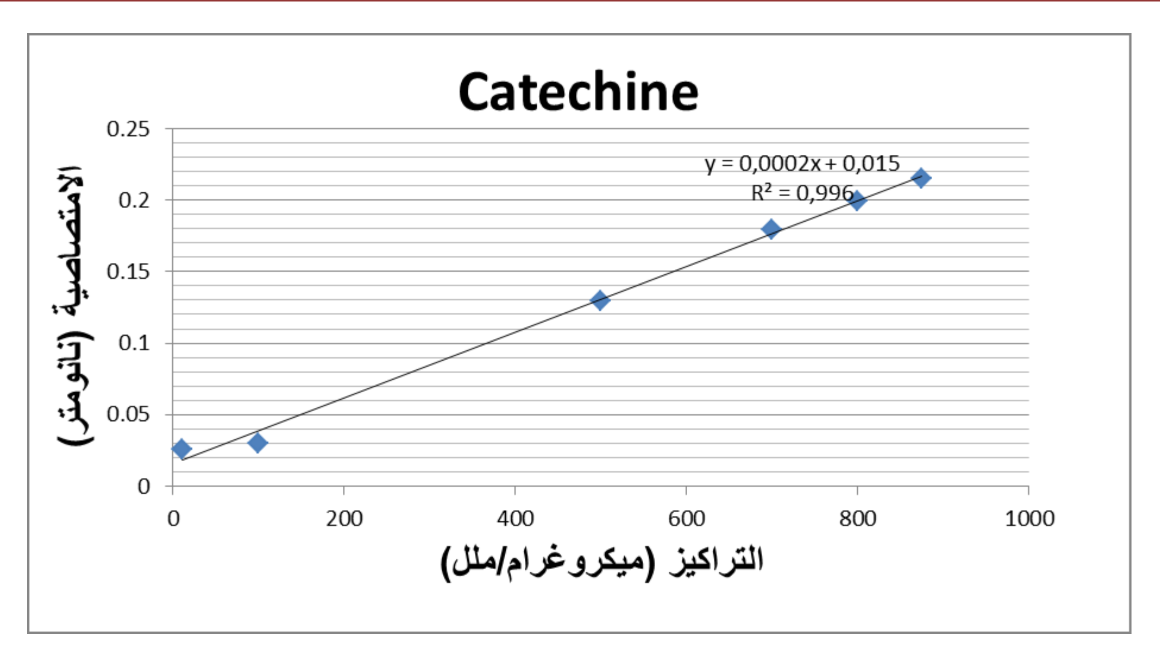
الشكل (03): توضح مخطط بياني لقيم الفلافونيدات المقدرة عند مستخلصات نبات السعدان *(Neurada procumbens L.)*

من خلال الشكل (03) نلاحظ أن كمية الفلافونيدات عند المستخلصات الإيثانولية تفوقت بنسب ضئيلة عن نظيرتها في المستخلصات الميثانولية. حيث أن كمية الفلافونيدات للمستخلصين الإيثانوليين قدرت بـmg QUE/ g EX: (0.30 ±0.025) للثمار و mg QUE/ g EX (0.27±0.011) للأوراق، تليها كمية الفلافونيدات للمستخلصين الميثانوليين و التي بلغت عند الأوراق mg QUE/ g EX(0.26 ±0.026) و عند الثمار بلغتmg QUE/ g EX (0.23 ±0.008).

5-التقدير الكمي للتانينات Les tannins :

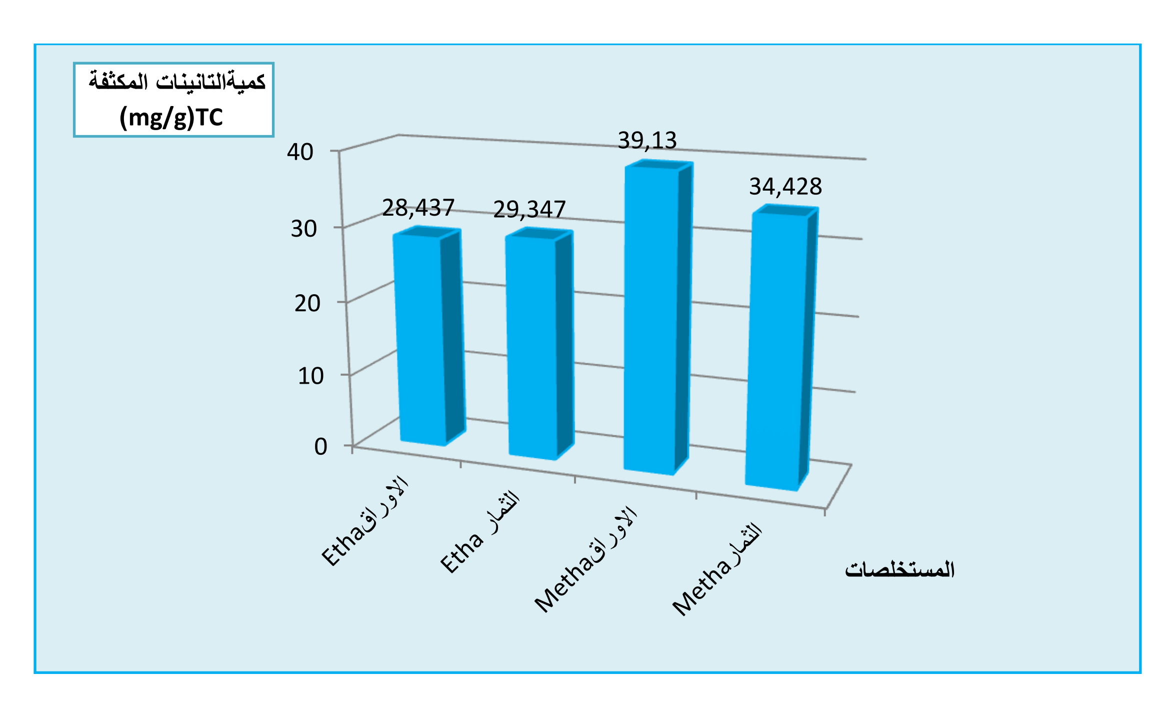
✓ التانينات المكثفة (TC) :

تم تقدير التانيات المكثفة لنبات السعدان و ذلك بالإعتماد على محلول الفانيلين (Solution Vanillin) ككاشف، حيث يعبر كميا على المحتوى الكمي للتانينات المكثفة بإستعمال المعادلة الخطية للمنحنى القياسي للكاتشين المدرج في الوثيقة (32)-



الوثيقة (32):توضح المنحنى القياسي لإمتصاصية الكاتشين

تقدر كمية التانينات المكثفة للمستخلصات بالميليغرام (mg) المكافىء لحمض الكاتشين على الغرام (g) من كتلة المستخلص الجاف (mg AG eq / g d'extrait)، كما هو موضح فيالشكل (04) :



الشكل (04) :توضح مخطط بياني لقيم التانينات المكثفة المقدرة عند مستخلصات نبات السعدان (*Neurada procumbens* L.)

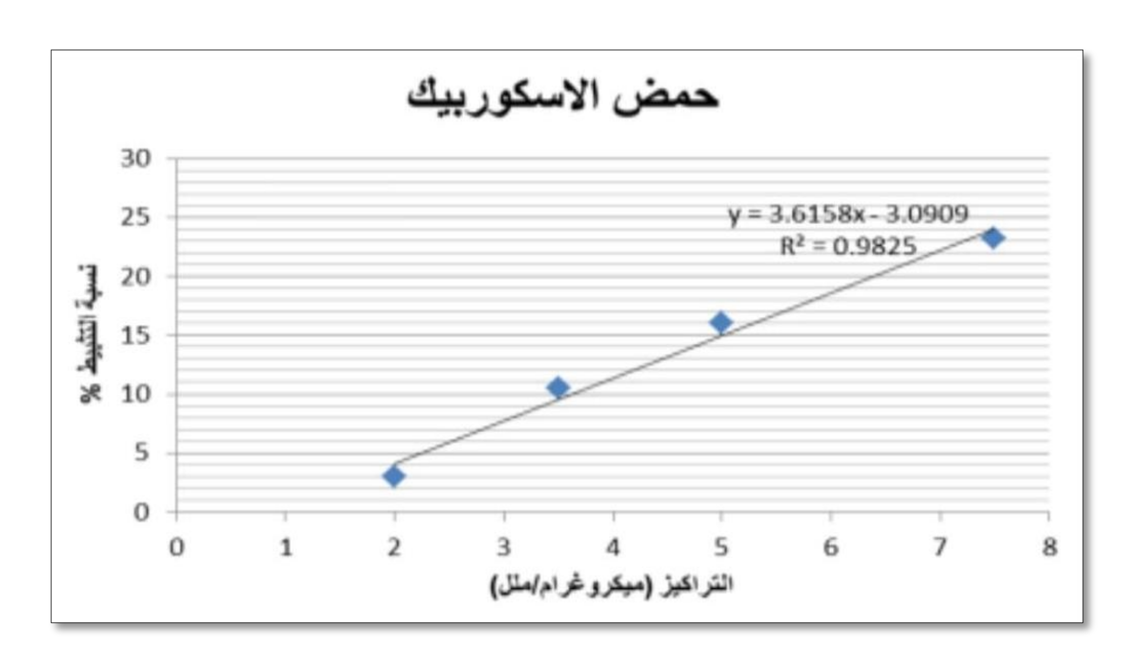
من خلال الشكل (04) نلاحظ أن كمية التانينات المكثفة مرتفعة عموما في جميع المستخلصات مع تفوق المستخلصات الميثانولية للأوراق والثمار على المستخلصات الإيثانولية.

حيث أن الأوراق في المستخلص الميثانولي سجلت أعلى قيمة قدرت ب mg EAC/g (39.13 ± 6.825)Extrait تليها الثمار بقيمةmg EAC/ g Extrait (34.42± 2.101) ، ثم المستخلص الإيثانولي للثمار بقيمة mg EAC/ g Extrait (29.34 ± 2.502) و للأوراق بقيمة mg (28.43 ± 3.412) EAC/ g Extrait.

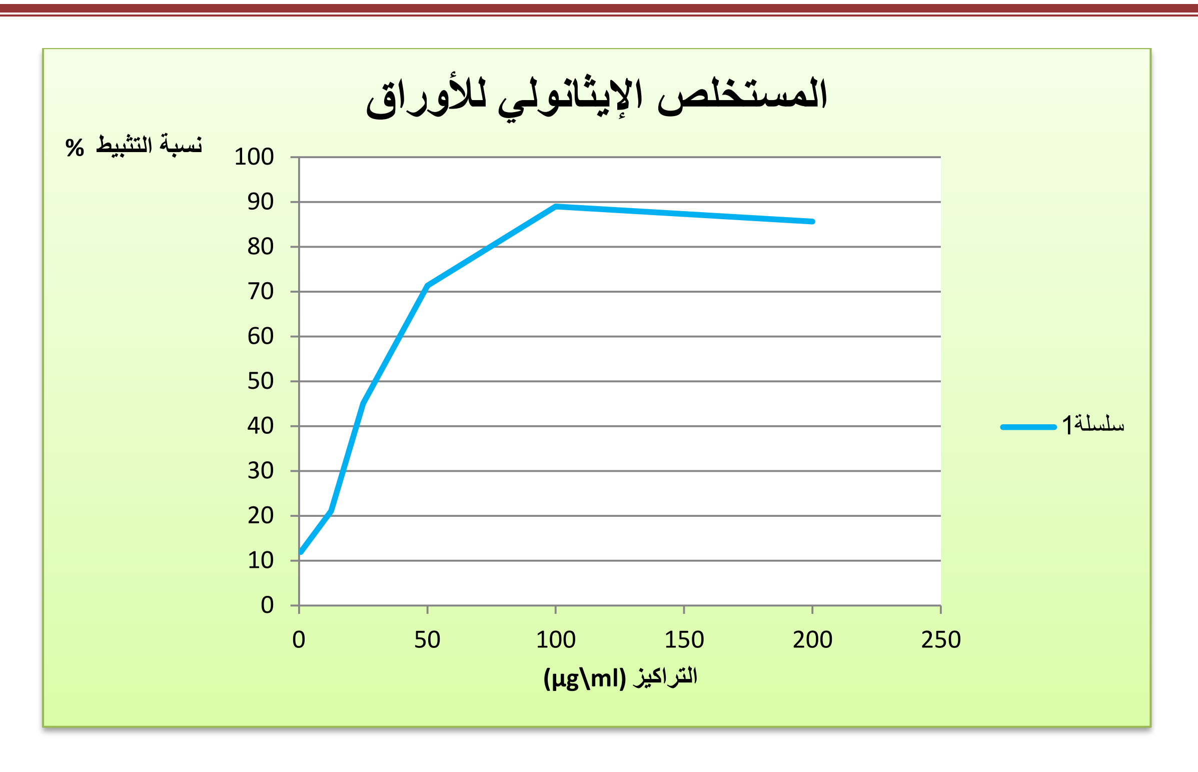
6- تقدير النشاطية المضادة للأكسدة (AAO) :

1-6 إختبار الفعالية المضادة للجذر الحر $DPPH^{•}$:

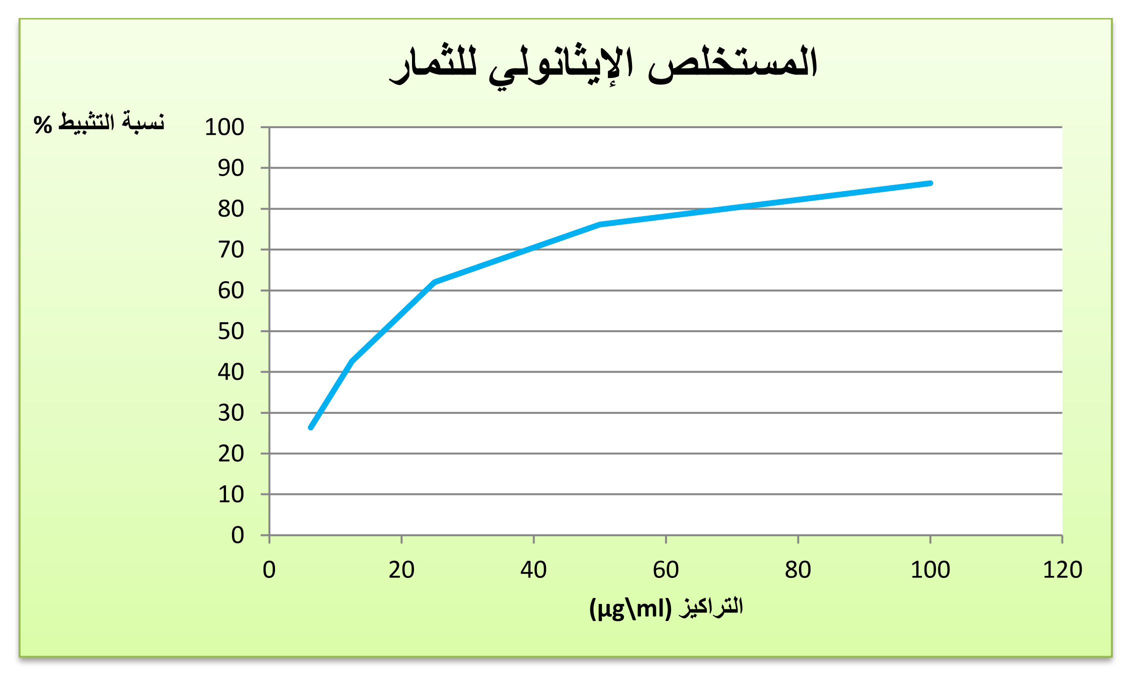
بهدف تقدير النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات المدروسة ،تم إستعمال اختبار الجذر الحر $DPPH^{•}$ الذي يعد من أشهر وأسهل الاختبارات المعتمدة لذلك، حيث تم تحديد نسب تثبيط الجذر الحر انطلاقا من تراكيز متزاييدة من المستخلصات النباتية بدلالة نسبة التثبيط I%، وتم مقارنة النشاطية المضادة للأكسدة للمستخلصات الأربعة بالنشاطية المضادة للأكسدة لحمض الأسكوربيك بإعتباره كمرجع ،وذلك لما يمتلكه من نشاطية كابحة للجدور الحرة-الوثيقة (33).



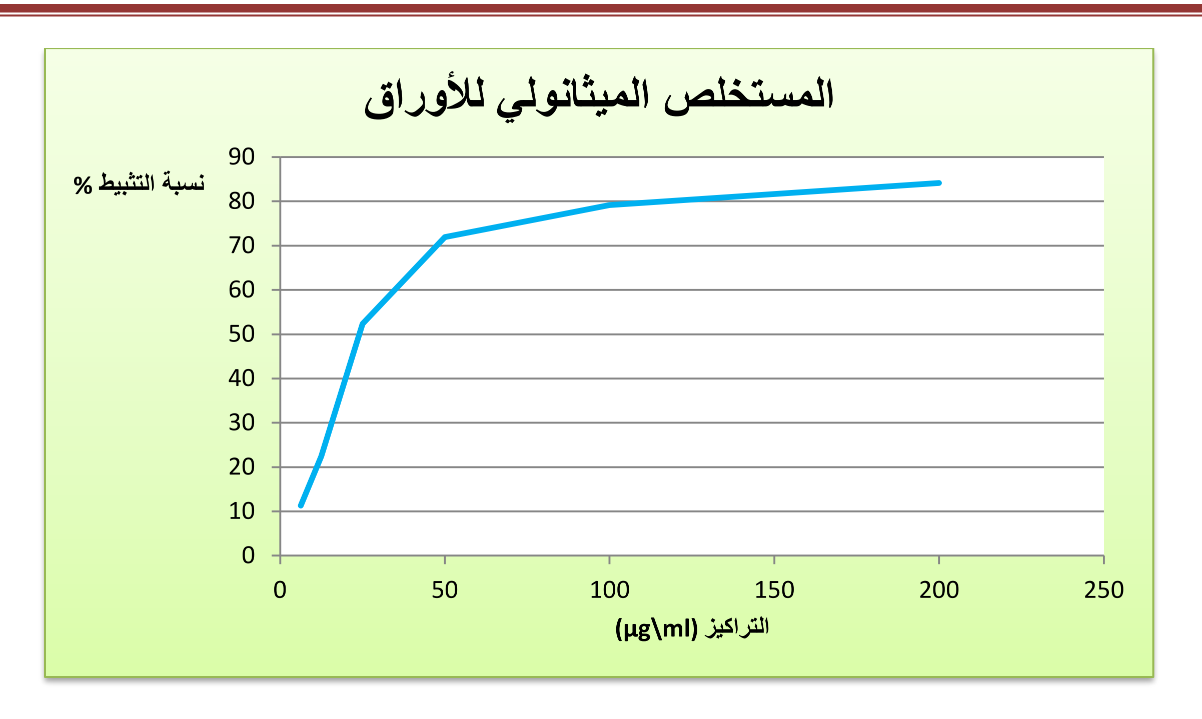
الوثيقة (33): توضح المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد فيإختبار الجذر $DPPH^{•}$



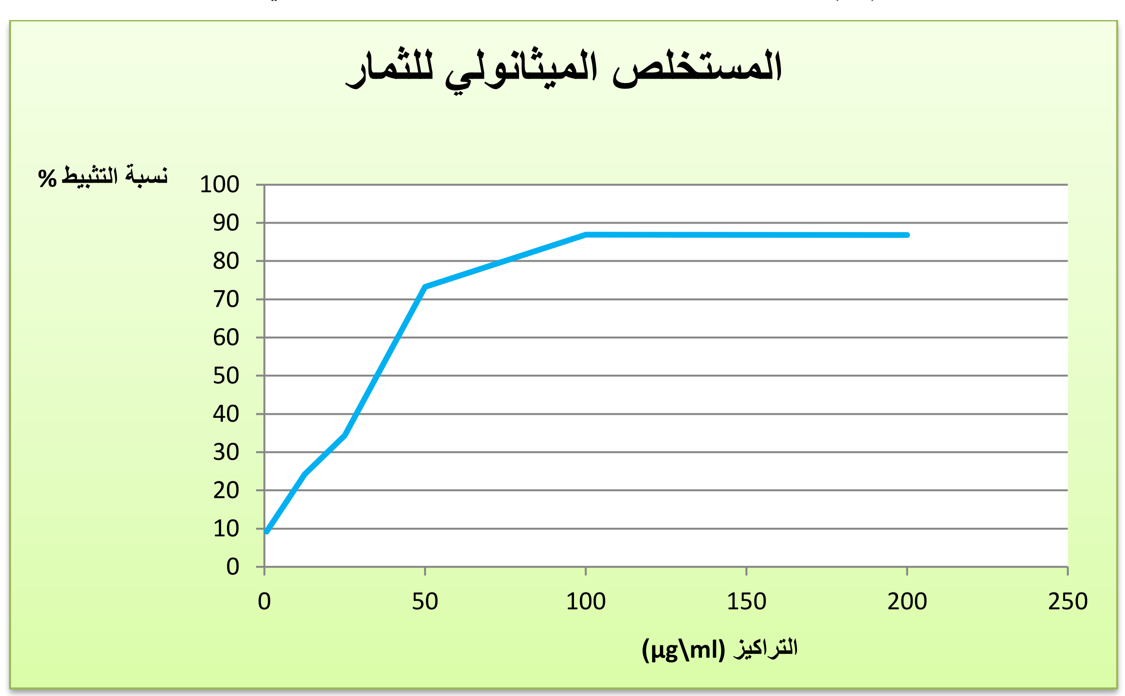
الشكل (05): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي للأوراق.



الشكل (06): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي للثمار.

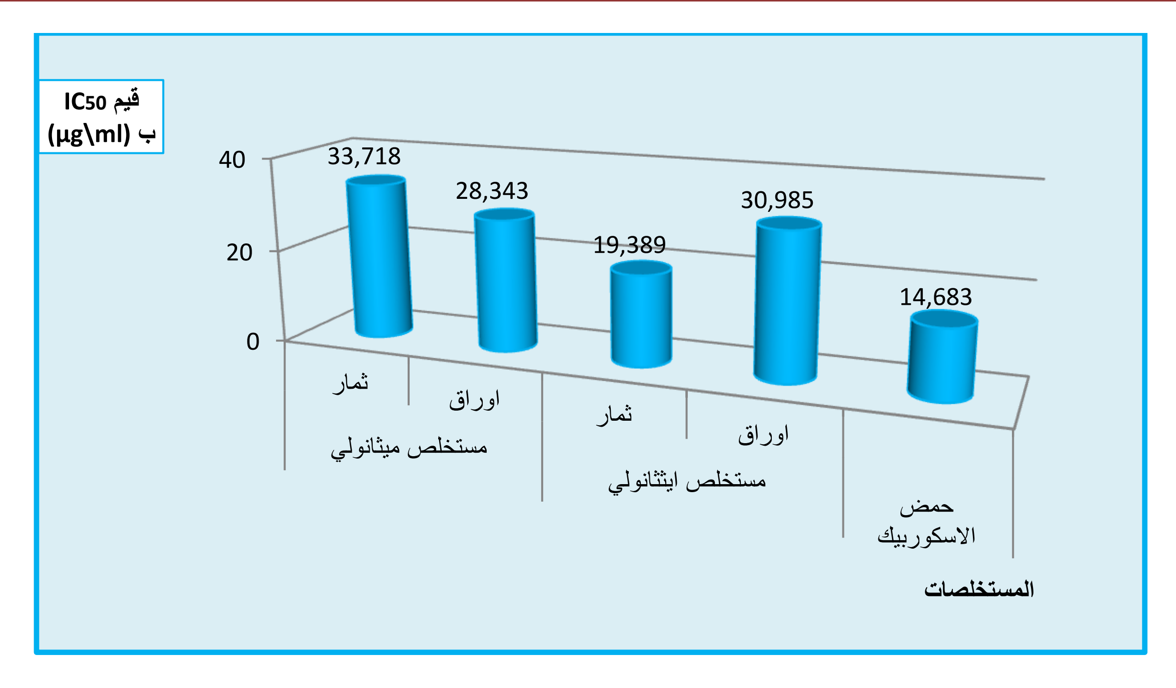


الشكل (07): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الميثانولي للأوراق



الشكل (08): منحنى نسبة التثبيط بدلالة تراكيز المستخلص الميثانولي للثمار

إنطلاقا من المعادلات الخطية لمنحنيات التثبيط (I%) للمستخلصات النباتية – الاشكال (05، 06، 07، 08) و كذا المعادلة الخطية لفاعلية حمض الأسكوربيك ضد جذر DPPH˙بدلالة تركيزه الموضحة في الوثيقة (33) ، تم استخراج قيم IC50 لكل مستخلص و لحمض الأسكوربيك و دونت النتائج في الشكل (09)، بحيث أن القيمةالأقلل IC50 تعنيالتأثيرالإزاحيالأفضللمستخلص (NOTO *et al.*, 2016)



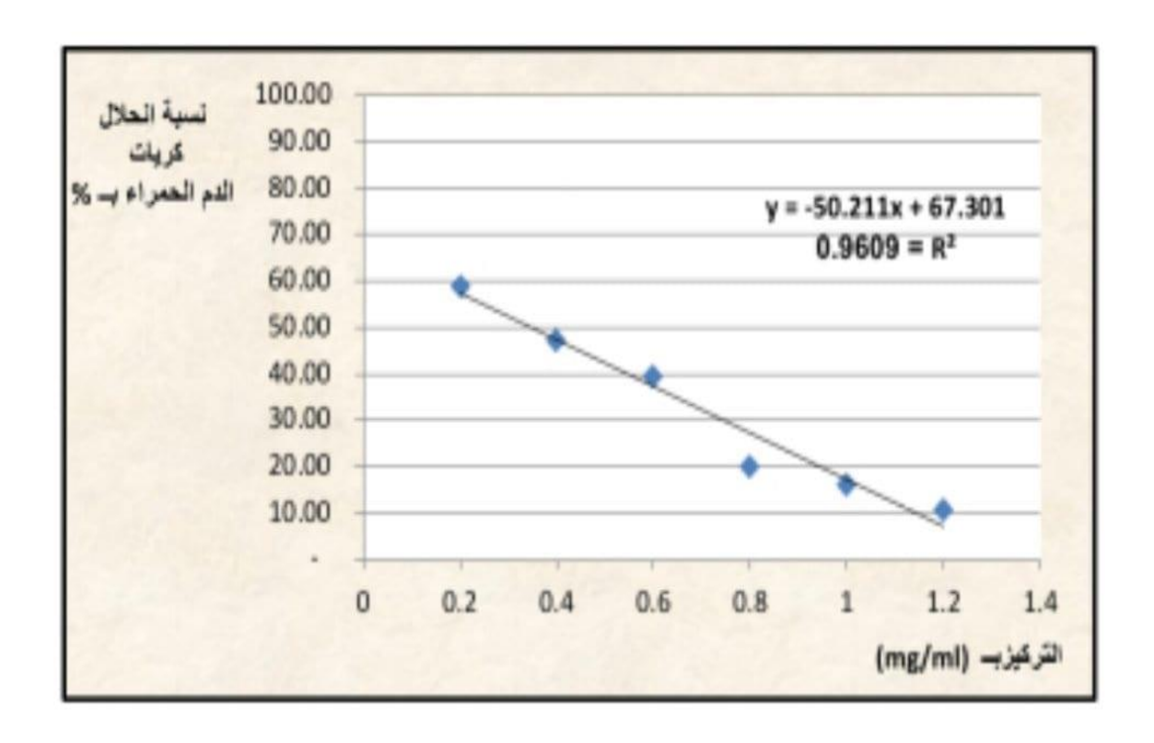
الشكل (09): توضح قيم IC50(المثبطة لنسبة 50% من جذور $DPPH^{•}$) لمستخلصات نبات السعدان (*Neurada procumbens* L.) ولحمض الأسكوربيك

من خلال الشكل (09) الذي يوضح قيم IC50 لكل من المستخلصات و حمض الأسكوربيك نلاحظ ـن حمض الأسكوربيك يتفوق في النشاطية المضادة للجذر الحر $DPPH^{•}$ على المستخلصات النباتية الأربعة بقيمة قدرت ب(14.683 µg/ml).

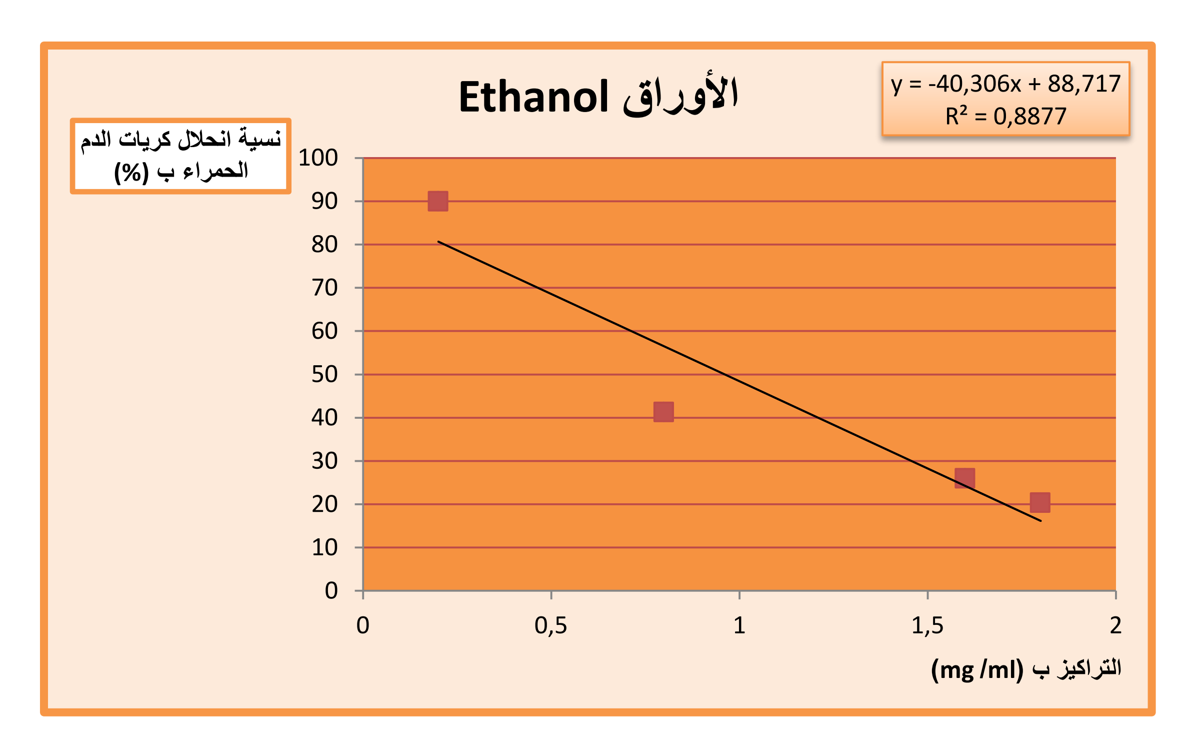
كما نلاحظ أن أعلى قيمة ل IC50 بالنسبة للمستخلصات النباتية سجلت عند المستخلص الميثانولي للثمار و قدرت ب(33.718 µg/ml) و ادنى قيمة عند المستخلص الإيثانوليللثمار قدرت بـ (19.380µg/ml) ، في حين سجل المستخلص الإيثانولي للأوراق قيمة(30.985 µg/ml و المستخلص الميثانولي للأوراق قيمة(28.343 µg/ml).

2-6 نتائج إختبار النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse)

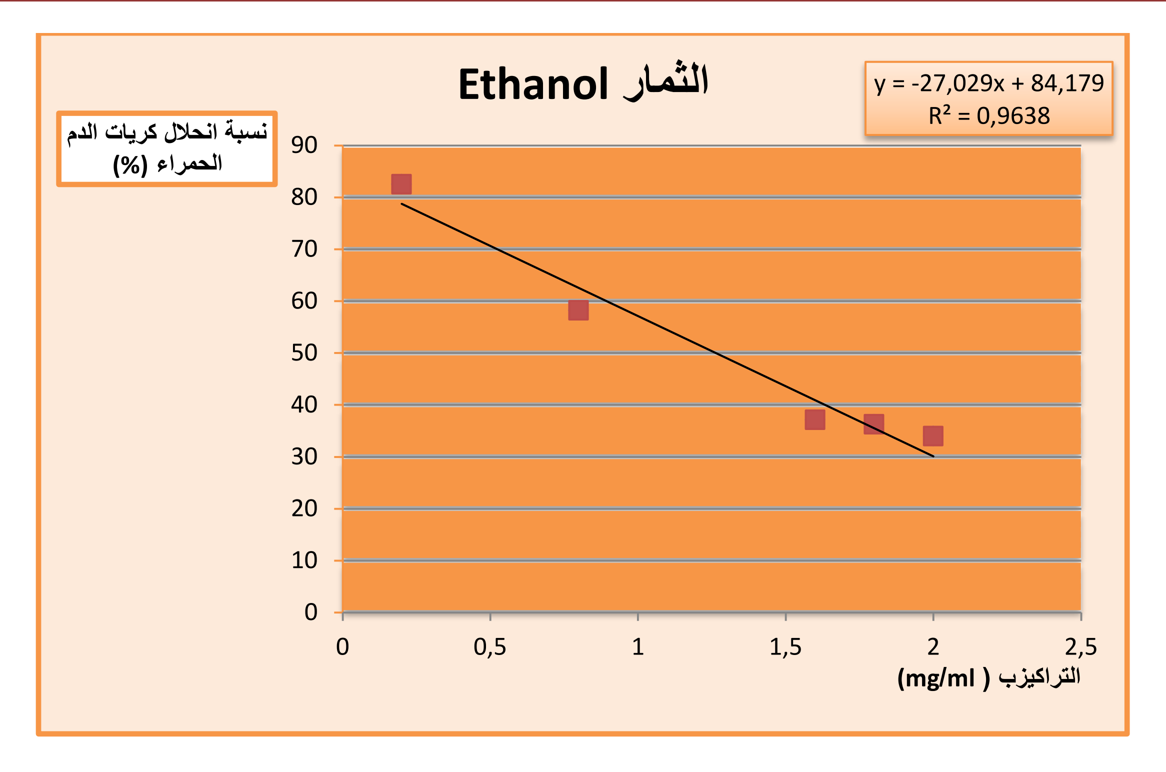
تم تقدير النشاطية المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء للمستخلص الإيثانولي لأوراق وثمار نبات السعدان استنادا لنشاطية حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique– الوثيقة (34) بإعتباره مرجع قياسي.



الوثيقة (34): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء(Hémolyse)



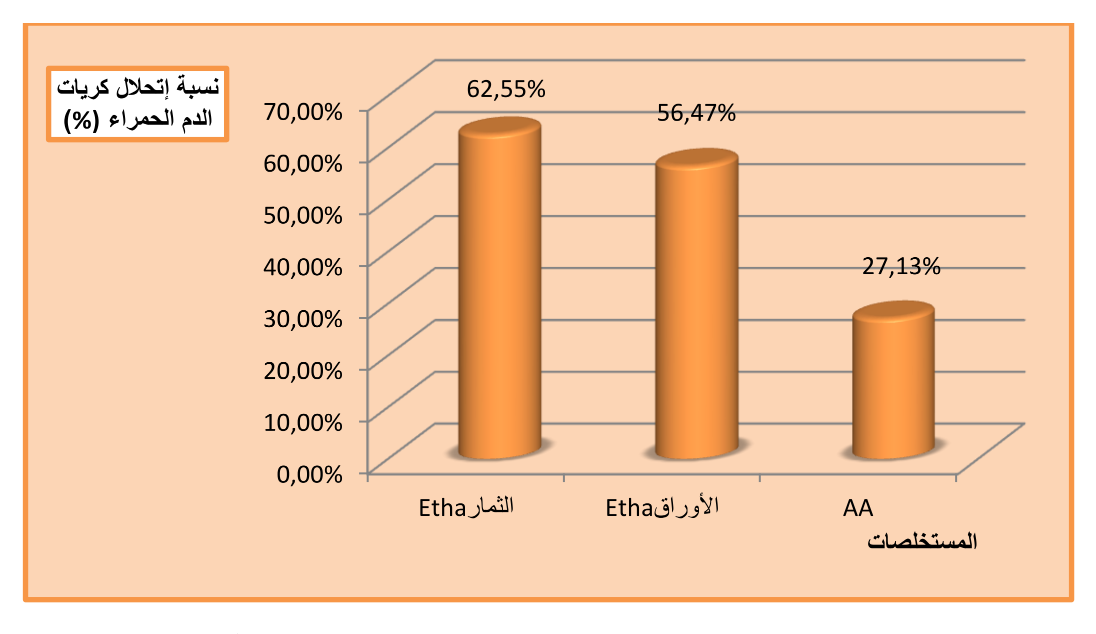
الشكل (10): منحنى نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات السعدان *Neurada procumbens* L



الشكل (11): منحنى نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء بدلالة تراكيز المستخلص الإيثانولي لثمار نبات السعدان *Neurada procumbens*L.

من خلال الوثيقة (34) والشكلين (10، 11) الموضحة لنسبة إنحلال كريات الدم الحمراء، نلاحظ تناسب عكسي بين نسب الإنحلال وتراكيز المستخلصات حيث كلما زاد تركيز المستخلصات قلة نسبة كريات الدم المنحلة.

و من خلال نتائج الشكل (12) أدناه يتضح أن الأثر الوقائي لإنحلال كريات الدم الحمراء في التركيز (0.8mg \ ml) متقارب عند مستخلصي الأوراق و الثمار، فيما عدا محلول حمض الأسكوربيك الذي دونت عنده أدنى قيمة إنحلال قدرت ب 27.13%، في حين سجل مستخلص الثمار أقصى نسبة انحلال قدرها 62.55%، و سجل مستخلص الأوراق نسبة قدرت ب 56.47%.

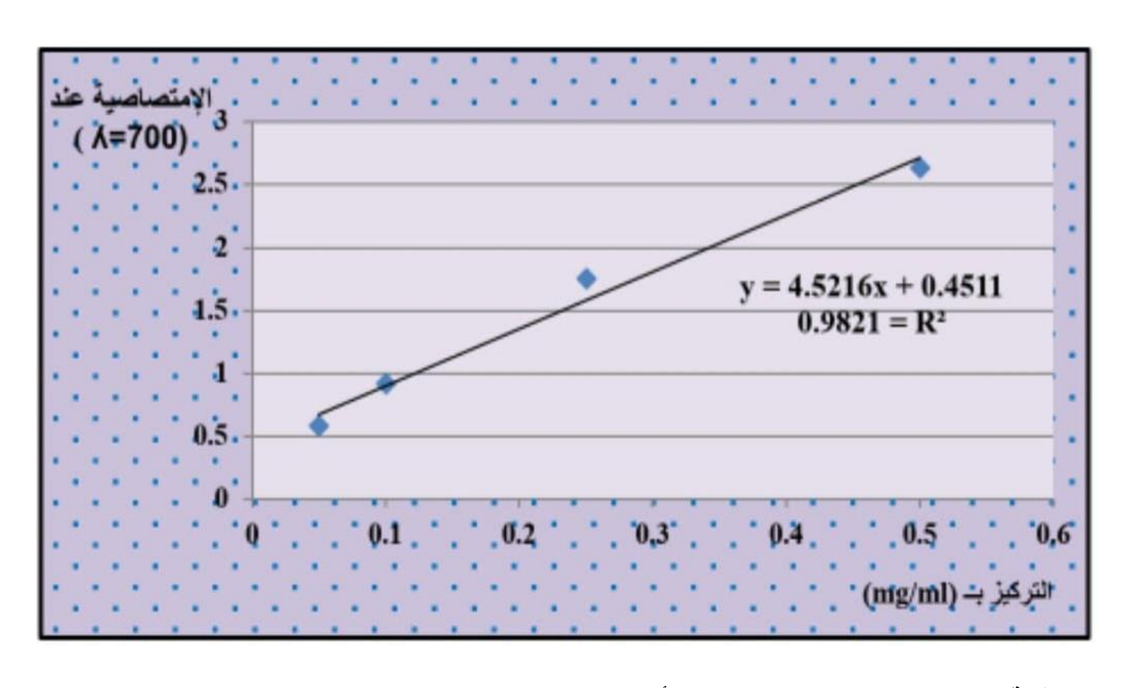


الشكل (12): نسبة إنحلال كريات الدم الحمراء لمستخلصي نبات السعدان ولحمض الأسكوربيك عند التركيز (0.8mg\ml)

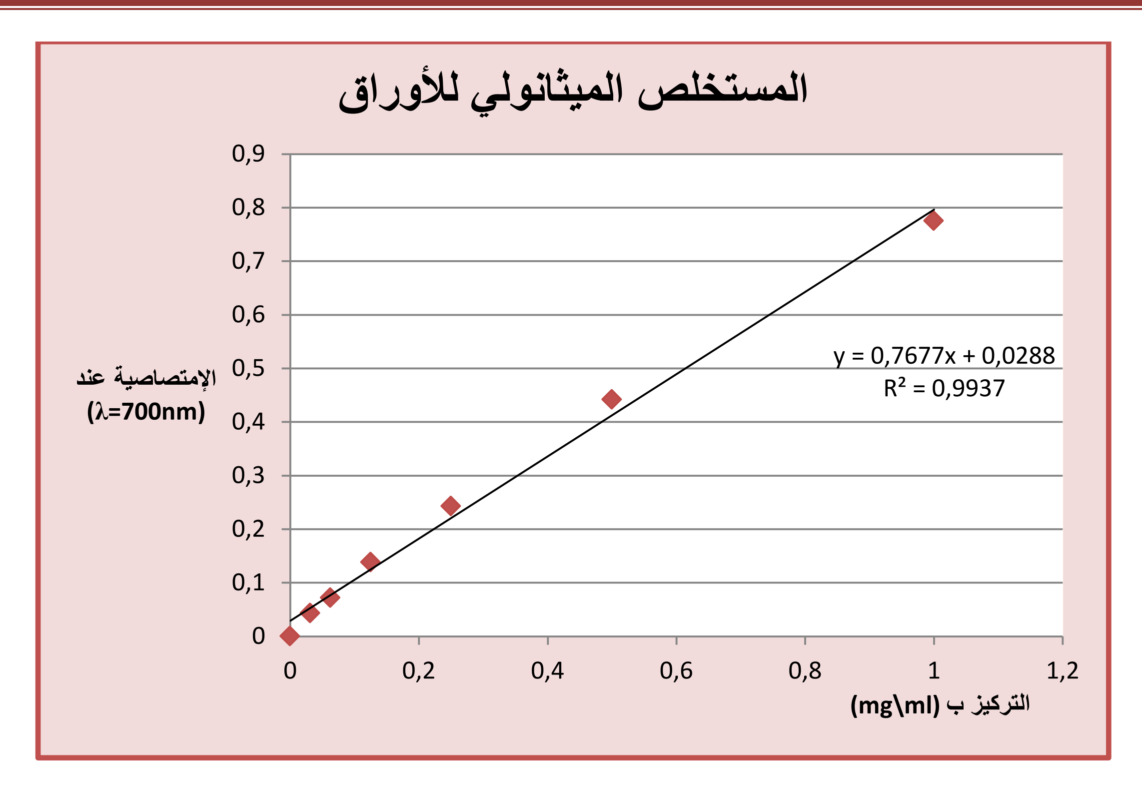
3-6 نتائج القدرة الإرجاعية للحديد :FRAP

تم تقدير القدرة الإرجاعية للمستخلصين الإيثانولي والميثانولي لأوراق نبات السعدان، حيث يرتكز مبدأ هذا الإختبار على قياس التغيرات التي تحدث في الإمتصاصية الضوئية لمزيج التفاعل والتي تمتلك علاقة طردية مع القدرة الإرجاعية.

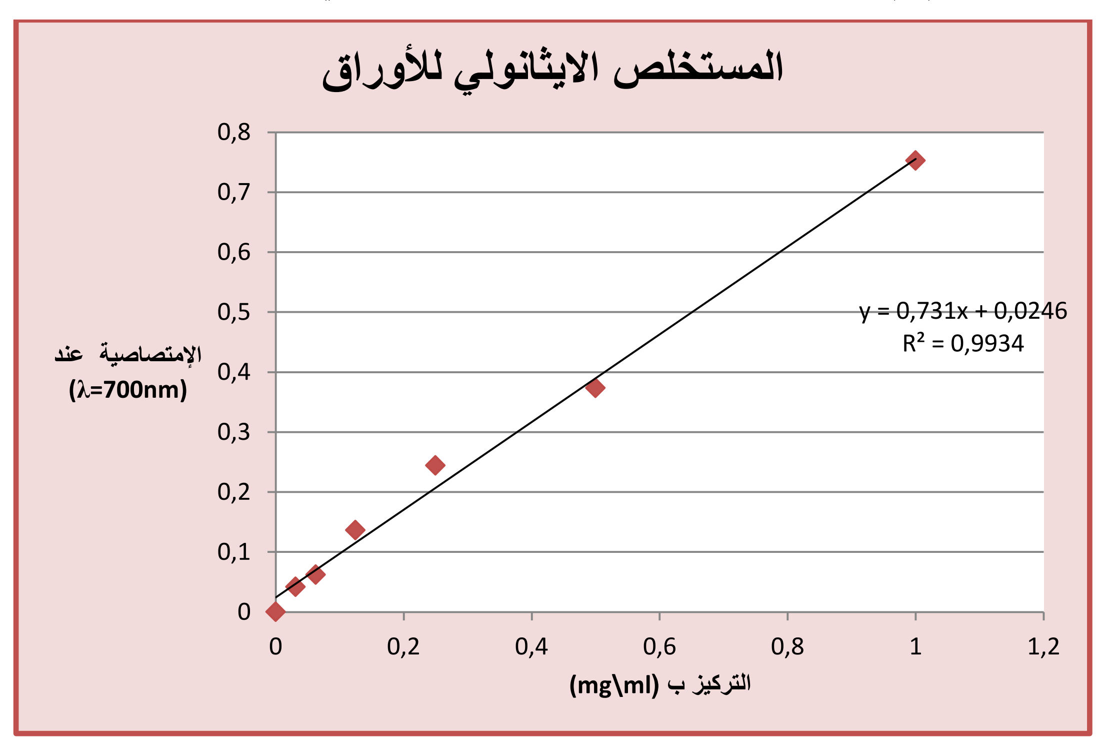
وحددت الفعالية الإرجاعية لمستخلصات العينات النباتية استنادا لنشاطية حمض الأسكوربيك Acide Ascorbique– الوثيقة (35) – بإعتباره مرجعا قياسيا.



الوثيقة (35): المنحنى القياسي لحمض الأسكوربيك المعتمد في إختبار القدرة الإرجاعية للحديد FRAP



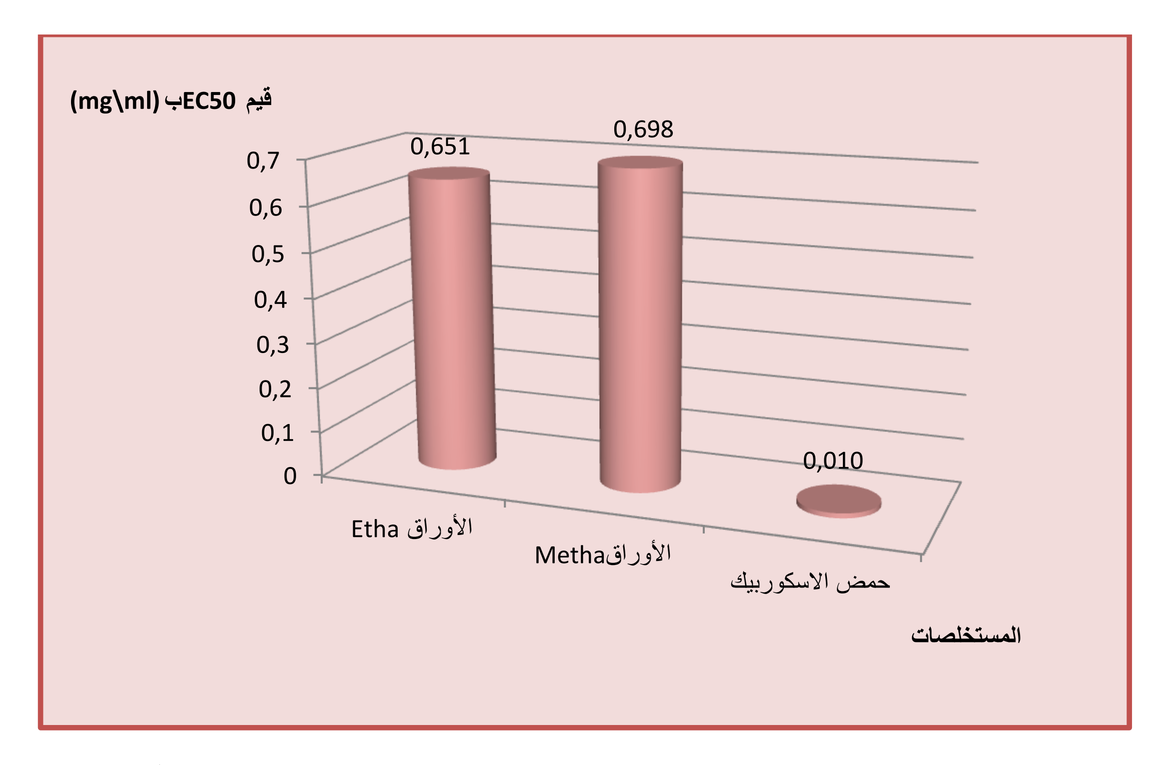
الشكل (13): منحنى الإمتصاصية بدلالة تركيز المستخلص الميثانولي لأوراق نبات السعدان



الشكل (14): منحنى الإمتصاصية بدلالة تركيز المستخلص الإيثانولي لأوراق نبات السعدان

من خلال الوثيقة (35) و الشكلين (13، 14) الموضحينللإمتصاصية في مستخلصات نبات السعدان و حمض الأسكوربيك عند إختبار FRAP نلاحظ أن جميع المستخلصات لها القدرة على إرجاع Fe^{+3}إلى Fe^{+2} و الذي يعبر عنه بزيادة الإمتصاصية عند طول موجة 700 nm و ذلك بزيادة التركيز .

و من خلال الشكل (15) أدناه الموضحة لقيمEC50 للمستخلصين النباتيين فنلاحظ قيم متقاربة لكلا المستخلصين الميثانولي و الإيثانولي للأوراق حيث قدرت نتائجهم على التوالي ب 0.698mg\ml و 0.651mg\ml و سجلت أدنى قيمة عند مزيج حمض الأسكوربيك قدرت ب 0.010mg\ml



الشكل (15): قيم التركيز الفعال EC50 للقدرة الإرجاعية لمستخلصي نبات السعدان ولحمض الأسكوربيك

II- المناقشة:

1-الدراسة الفيتوكيميائية الأولية:

- ❖ من خلال الكشف تبين لنا أن نبات السعدان يحتوي على التانينات ، للتانينات دور هام في النبات فهي تتواجد عادة بشكل مركز في أجزاء النبات مثل الأوراق و السيقان (منصور.،2006). وتعتبر كمضادات للأكسدة في النبات لأنها ضمن مجموعة عديدات الفينول (FELLER.,2004).
- ❖ ربما يعود غياب الصابونوزيد في النبات لكونها مواد مرة الطعم تعمل على طرد الحيوانات آكلات الأعشاب (علاوي.،2003).
- ❖ كانت النتيجة إيجابية للكشف عن الفلافونويدات كما تؤكد دراسة (CHELALBA *etal*.,2020) على وجود محتوى عال من الفلافونويد في نبات السعدان.

إذ تعتبر الفلافونويدات من المركبات التي تلعب دورا دفاعيا، فوجودها في النبات يمكن أن يفسر بأنها نوع من أنواع مضادات الأكسدة (PINCEMAIL *et al*.,1986)، وهي مواد تقي النبات من البكتيريا (GRYGLESKI *et al*.,1987)، وتمتلك أيضا خاصية مضادة للفيروسات والميكروبات (SHIJLEM.,2007).

- ❖ كانت النتيجة سلبية للكشف عن المركبات المرجعة على عكس دراسة قام بها (HATYAT et UZAIR.,2020) لمعرفة القدرة العلاجية لنبات السعدان بواسطة كروماتوغرافيا GC-MSلمستخلصين بمذيبين مختلفين (ميثانول، ديكلوروميثان) التي أظهرت إحتواء النبات على الغليكوزيدات و الغليكوزيدات القلبية

- ❖ وجود الستيرولات و التربينات الثلاثية يفسر على أن النبات ينتج هذه المادة لتوفر الأنسجة الخاصة كالخلايا الغدية و القنوات الزيتية (BABA AMER.,2013). وبالمقارنة مع دراسة (HAYAT et Uzair.,2020) التي أثبتت أن نبات السعدان يحتوي على كل من الستيرولات و التربينات.
- ❖ كانت النتيجة سلبية للكشف عن القلويدات على عكس دراسة (KURSHID *etal*.,2019) التي أثبتت وجود القلويدات قد يفسر ذلك لكونهم إستخدموا تقنية الفصل الكروماتوغرافي HPLC حيث تعتبر HPLC وسيلة بسيطة لعزل و تحديد مختلف المركبات من خليط وكذلك أحسن طريقة لفصل الخلائط المعقدة في وقت قصير (COMBIER *et al*.,1974).

2-مردود المستخلصات:

بينت النتائج الخاصة بالمردود أن المذيبين المستعملين (الإيثانول و الميثانول) كانت نتائجهما متقاربة عند نفس الجزء النباتي المستعمل و ذلك بإستعمال نفس الوزن و نفس شروط التجربة و هذا ما يتفيق مع (محمد بو عبد الله،2011) الذي يبين أن إستخلاص المكونات النباتية يكون تقريبا متساوي عند إستعمال المذيبين العضويين الإيثانول و الميثانول .

بينما لاحظنا إختلاف بين مردود الثمار و الأوراق في كلا المذبين رغم إستعمال نفس الوزن و نفس شروط التجربة و يمكن أن نرجح سبب الإختلاف في المردود إلى :

طبيعة المركبات الكيميائية في العينات النباتية (SIDENEY *et al*.,2016) التي يحتمل أن تكون عبارة عن جزيئات ذات قطبية ضعيفة و درجة ذوبانية ضئيلة في المذيبات المستعملة (HARRAR.,2012)، إذ أن إختلاف الوزن الجزيئي و البنية الكيميائية للمركبات للمركبات يؤدي إلى عرقلة و صعوبة إنحلالها و إستقطابها من طرف المذيب (الحلو وآخرون.،2013).

طريقة الإستخلاص و ظروفها (YEO SONTA *et al*.,2014) حيث أن تكرار عملية الإستخلاص و كمية المذيب بالنسبة للمادة النباتية إضافة إلى مدة عملية الإستخلاص من شأنها تحديد قيمة قيمة المردود (جيدل.،2015) و يفسر ذلك بدرجة تشبع المذيب أي كفاءة حجمه المستعمل لإستخراج جل جزيئات العينة، أو عدم إستغراقه الوقت الكافي للقيام بذلك (RAJAEI *et al*.,2010). كما أفادت عديد الدراسات إلى أن إضافة نسبة من الماء للمذيبات العضوية يمكنها زيادة المردود، حيث أن هذه الطريقة تمثل أفضل و أكثر الأنظمة إستعمالا لإستخلاص مركبات الأيض الثانوي في النبات و ذلك لأن المزج يعمل على زيادة قطبية المحلول و شراهة المركبات المستقطبة (جيدل.،2015).

3-التقدير الكمي للفينولات و الفلافونيدات:

تعد الفينولات مركبات نباتية جد هامة بسبب قدرتها الكابحة لإحتواء جزء منها على مجموعة هيدروكسيل، حيث تساهم هذه المركبات في التاثير المضاد للاكسدة فهي تنتشر بشكل واسع في المنتجات النباتية الثانوية (بو بلوطة.،2009).

و قد لاحظنا من خلال النتائج السابق ذكرها وجود إختلاف مع تناسب طردي في المحتوى الكلي لكل من الفينولات و الفلافونويدات بين مختلف مستخلصات النبات ، بحيث أن كلاهما سجلا أعلى قيمة لهما عند المستخلص الإيثانولي للثمار و أدناها عند المستخلص الميثانولي للثمار مع تفوق قيمة المحتوى في المستخلص الإيثانولي للأوراق على نضيرتها في المستخلص الميثانولي للأوراق لكل من الفينولات و الفلافونيدات، وقد يعزى هذا الاختلاف في محتوى الفينولات و الفلافونيدات بين المستخلصات الى كون

النبات يعطي كميات متفاوتة من المركبات الفينولية التي تتوقف على نوعية و قطبية المذيب المستعمل في الاستخلاص(بن عاشورة.،2007) و من ناحية اخرى تغير سلوكها بتغير تركيبتها الكيميائية و الوسط الموجودة فيه (حمضي-قاعدي) (HAYOUNI *et al*.,2007)، كما يمكن تفسير ذلك الى كون المركبات الفعالة في النبات تتركز في أجزاء خاصة و تختفي في أجزاء أخرى و ذلك بحسب نوعية الوظيفة التي سيقوم بها(حجاوي و اخرون.،2004).

فبالمقارنة مع دراسة CHELALBA et *al* (2020) لنبات السعدان بإستخدام طريقة ICP OES و التي تحصل فيها على قيم (56.23 mg GAE/g extract) و

(30.10 mg RE/g extract) لكل من الفينولات و الفلافونويدات على التوالي، نجد أن هذه الكمية عالية جدا بالمقارنة مع الكمية التي تحصلنا عليه، و قد يرجع ذلك إلى أن للتقنيات و طرق الاستخلاص و شروطها دور مهم في تغير كمية الفينولات و الفلافونويدات حتى في نفس نوع النبات (ALBUQUERQUE et HANAZAKI.,2006).

و في دراسة أخرى لنفس النبات قام بها (KHURCHID *etal*) (2019) لتحديد التركيب الكيميائي و القدرة العلاجية للنبات *Neurada procumbens* في باكستان، تم تقدير المحتوى الكلي للفينولات و الفلافونويدات بإستخدام أربع أنواع من المستخلصات ,Mithanol, Hexan, Butanol) (Chlorophorm ، و قد كانت النتائج الأعلى مسجلة عند المستخلص البوتانولي بقيمة 0.82 ± 47.29) (mg GAE/gextrac و(35.16 ± 0.97 mgQE/g extract) للفينولات و الفلافونيدات على التوالي، يليه المستخلص الميثانولي للنبات بقيمة (43.47 ± 1.55 mg GAE/g extract) للفينولات و قيمة (0.10 ± 18.88)mgQE/g extractللفلافونويدات و بمقارنتها مع النتائج التي تحصلنا عليها في دراستنا فهي تعتبر عالية جدا، و يمكن أن يرجع هذا الإختلاف كميا كان أو نوعيا إلى عدم تجانس الظروف البيئية و يظهر ذلك في تباين الغطاء النباتي بين المناطق و إختلاف التضاريس و ظروف التربة (حليس.،2007)، و أيضا قد يعزى إلى إختلاف فترة حصاد النباتات إذ تختلف بين الجزائر و باكستان (FÜLÖP.,2000).

4-تقدير التانينات:

تمثل التانينات عموما مجموعة واسعة من المستقلبات الثانوية و التي تنتشر في العديد من النباتات الراقية (MANACH و آخرون.،2004)، و هي عبارة عن متعدد وحدات من الفلافونويدات المرتبطة ببعضها بروابط كربون(اراتني.،2008) يمكنها أن تؤدي تأثيرات مزيحة للجذور الحرة لإمتلاكها خاصية منح الإلكترونات أو الهيدروجين كما يمكنها أن تمسك الأيونات المعدنية المتدخلة في إنتاج الجذور الحرة و بذلك تثبيط الأكسدة (KARAMAC.,2007).

وقد لاحظنا سابقا من خلال النتائج أن النبات ذو محتوى معتبر من التانينات المكثفة، في كل من مستخلصات الأوراق و الثمار مع إختلاف بسيط بين القيم، و قد يرجع ذلك إلى كون التانينات مركبات تتوزع في جميع أجزاء النبات (خشب، أوراق، قشور، ثمار) (جرموني.،2009)، كما أن كمية التانيات في بعض النباتات قد تصل الى نسبة 70% (زمالي.،2007)، كما أكد (BALDOSANO *et al.*,2015) أن محلول الإيثانول بتركيز 50% فعال لإستخراج كمية كبيرة من التانينات.

5- تقدير الفعالية المضادة للأكسدة:

أولا: إختبار الفعالية المضادة للجذر الحر :DPPH•

يعتبر إختبار DPPH طريقة سريعة وبسيطة وغير مكلفة و مستخدمة على نطاق واسع لقياس قدرة المركبات على العمل ككاسحة للجذورالحرة (KEDAR etSINGH.,2011)، حيث تحدد خاصية الإزاحة للمادة أو المستخلص النباتي من خلال زوال اللون البنفسجي المميز لجذر•DPPH و تحوله إلى اللون الأصفر نتيجة إرجاعه بواسطة المركبات المضادة للأكسدة (بو عبد الله.،2011)، إذ تتجلى هذه الخاصية في مقدرة كل مستخلص على منح إلكترونا أو بروتون بغية تعديل الجذر الحر و إنتاج مركبات مستقرة (GOPY *et al.*,2003).

من خلال النتائج المتحصل عليها نلاحظ ضعف و تذبذب في نسب التأثير الإزاحي بين مختلف المستخلصات ، حيث أبدى المستخلص الإيثانولي للثمار أفضل فعل كابح للجذر الحر •DPPH مقارنة مع باقي المستخلصات، و كما ذكر سابقا أنه كلما نقصت قيمة IC50 زادت الفعالية المضادة للأكسدة (NOTO *et al.*, 2016)، فإنه يمكننا القول أن النشاطية المضادة للأكسدة للجذر الحر •DPPH في المستخلصات الأربعة المدروسة ضعيفة مقارنة بقدرة المرجع القياسي (حمض الاسكوربيك).

ويمكن أن يرجع هذا الضعف في النشاطية المضادة للأكسدة عند النبات الى تدني محتوى المستخلصات النباتية من الفينولات و الفلافونويدات، حيث تشير بعض الدراسات الى أن الأثر التثبيطي للمستخلصات النباتية مرتبط عموما بمحتواها من الفينولات و الفلافونويدات خاصة (JAVAMMARDI., 2003)، و ذلك لقدرتها على منح الهيدروجين من مجاميعها الهيدروكسيلية (ATMANI *etal.*, 2009; YEO *et al.*, 2014), و إحتوائها على الرابطة المزدوجة بين ذرتي الكربون في الموضع C_2 و C_3 (CAI *et al* .,2004) , كما يمكن أن يرجع تفاوت الفعالية ضد الجذر الحر •DPPH بن مستخلصات الأوراق و الثمار الى إحتمالية إحتواء المستخلصات التي لها قدرة كسح أكبر على تراكيز عالية من أنواع المركبات الفينولية و الفلافونويدية و التي تمتلك فعالية كبيرة في إرجاع الجذر الحر •DPPH بالمقارنة مع غيرها من المستخلصات، حيث أشار (RICE-EVANS *et al* 1997 إلى أن الزيادة الحاصلة في النشاطية المضادة للأكسدة قد ترجع إلى نوعية المركبات الفينولية

و تركيز و كمية هذه المركبات داخل الأنسجة النباتية، كما أنها تختلف من مركبات إلى أخرى، فمن المركبات ما يرتبط مع ROS مشكلا معقدات مستقرة و منها مايكسر رابطة تكافؤية مؤديا إلى إرجاع العنصر و منها ما يمكن أن يكون مخلبيا أو مانحا للبروتونات (YEO *et al*., 2014). كما قد يعود الإختلاف بين المستخلصات الى إختلاف تمركز المركبات الكيميائية خاصة الفينولات و الفلافونويدات في النبات حيث تتركز في بعض الأجزاء و تختفي في أخرى أو يؤدي الى إختلاف الفعالية المضادة للأكسدة.

ثانيا: إختبار إنحلال كريات الدم الحمراء : (Hémolyse)

يعتبر إختبار ال Hémolyse أسهل و أسرع التجارب المعتمدة لتحديد قدرة المستخلصات النباتية المضادة للأكسدة (BANERJEE *et al*.,2008) In vivo، سبب إختيار كريات الدم الحمراء كنموذج لدراسة التفاعلات الحاصلة بين المؤكسدات و مضادات الأكسدة في هذا الإختبار إلى غنى أغشيتها بالأحماض الدهنية الغير مشبعة التي تكون أكثر حساسية للجذور الحرة المؤدية لأكسدتها (ABIRAMI *et al*.,2014)، فإن الجذور الحرة تعمل على أكسدة اللبيدات السكرية في الغشاء البلازمي للخلية، هذا الخلل حسب (JUDITH.,2005) حيث يحدث فرقا في الكمون بين الوسط داخل خلوي و الوسط الخارج خلوي، مما يسمح بزيادة نفاذية الماء إلى داخل كرية الدم الحمراء فيسبب ذلك إنفجارا حلوليا محررة بذلك محتواها إلى الوسط الخارجي (DOLCI et PANT-EGHINI.,2014).

و في هذه الدراسة تم إستعمال H_2O_2 و $FeCl_3$ كعوامل محرضة للإجهاد التأكسدي ضد كريات الدم الحمراء، حيث حفز نشاطها عند درجة الحرارة الفسيولوجية لجسم الإنسان، و تم تتبع قدرة كريات الدم الحمراء على مقاومة الجذور الحرة في وجود المستخلصات النباتية المدروسة لونيا بواسطة جهاز المطيافية الضوئية، في هذه الدراسة أظهرت النتائج ضعفا في الفعالية المضادة لإنحلال كريات الدم مع وجود تفاوت في الفعالية بين المستخلصات، في حين ظهر فرق ملحوظ مقارنة بحمض الأسكوربيك المعتمد كمرجع قياسي, وهذه النتائج تتوافق نوعا ما مع النتائج المتحصل عليها في إختبار الجذر الحر $DPPH^•$، حيث تحصلنا فيها على نشاطية مضادة للأكسدة ضعيفة عموما.

ثالثا: إختبار القدرة الإرجاعية للحديد :FRAP

تعكس الخاصية الإرجاعية قدرة المركبات على منح إلكترونات و التي تعتبر من الآليات المضادة للأكسدة، يمكن أن يكشف عن هذه القدرة الإرجاعية لمختلف المواد مباشرة بتحول المركب Fe^{+3} إلى Fe^{+2}، بوجود المركبات المرجعة (جيدل،.2015), و من خلال النتائج المتحصل عليها و بالإعتماد على المسلمة التي تنص على أنه كلما كانت قيمة التركيز الفعال EC_{50} أقل دلت على القدرة الإرجاعية الأكبر للمستخلص (جيدل،.2015) فإنه يمكن القول أن القدرة الإرجاعية للمستخلصات النباتية ضعيفة مقارنة بقدرة المرجع القياسي (حمض الأسكوربيك).

الخاتمة

الخاتمة:

مواكبة لما يدعوا إليه العلم في السنوات الأخيرة و هو الرجوع للطبيعة و البساطة والبعد عن الكيماويات المعقدة، وبغرض تثمين المنتجات الطبيعية الناتجة عن العمليات الفيتوكميائية و الخاضعة عموما للتغيرات الفسيولوجية في العضوية النباتية، و نظرا لتغاضي الباحثين عن ذلك، إرتأينا إلى إجراء هذه الدراسة التي تهدف إلى تثمين أحد النباتات الصحراوية، الشائع نموها في بيئتنا المحلية (منطقة واد سوف الجنوب الشرقي الجزائري)، ألا وهو نبات السعدان *Neurada procumbens* L.

حيث شرعنا في إنجاز هذا العمل بجلب العينة النباتية ثم تجفيفها و سحقها و القيام بتحضير المستخلصات (الميثانولية و الإيثانولية) للعينات النباتية (الثمار و الأوراق)، و يليها تقدير نسبة المردود، حيث أعطى المستخلص الإيثانولي للأوراق أعلى قيمة و أقلها عند المستخلص الإيثانولي للثماربعدها قمنا بالكشف الكيميائي عن نواتج الأيض الثانوي في النبات من خلال عمليات التلوين و الترسيب و التي أسفرت عن وجود كل من التانينات، الفلافونويدات، الستيرويلات، التربينات و غياب كل من الصابونوزيدات، المركبات المرجعة و القلويدات.

و بغرض المقارنة النوعية و الكمية للمركبات الكيميائية في المستخلصات المتحصل عليها قمنا ب:

- التقدير الكمي لعديدات الفينول وذلك إستنادا لطريقة Singleton وآخرون (1999) و بالإعتماد على الـ Folin-ciocalteau ككاشف لعديدات الفينول، حيث دونت أعلى كمية لعديد الفينول في مستخلص الثمار الإيثانولي التي قدرت بـ (22.751± 1.820) ug AGE/ mg EX ، و أقلها عند مستخلص الثمار الميثانولي التي قدرت بـ (17.550 ±0.596) ug AGE/ mg EX
- التقدير الكمي للفلافونويدات وذلك بإستخدام ALCL3 ككاشف، حيث سجلت أعلى كمية لها في مستخلص الثمار الإيثانولي بقيمة mg QUE/ g EX: (0.30 ±0.025) ، وأدناها عند مستخلص الثمار الميثانولي بقيمة mg QUE/ g EX (0.23 ±0.008)، وهاته النتائج توافق ما تحصلنا عليه في التقدير الكمي لعديدات الفينول.
- التقدير الكمي للتانينات المكثفة و ذلك بإستخدام طريقة SUN et al تم تقديرها بواسطة الـvanillin ، حيث كانت القيم معتبرة في كل من الأوراق والثمار بالنسبة للمستخلص الميثانولي التي قدرت بـ mg EAC/g Extrait (39.13 ± 6.825) للأوراق و mg EAC/ g Extrait (34.42± 2.101) للثمار، و يليهم بعد ذلك المستخلص الإيثانولي للثمار بقيمة mg EAC/ g Extrait (29.34 ± 2.502) و للأوراق بقيمة mg EAC/ g Extrait (28.43 ± 3.412) ، و من خلال المقارنة بين المذيبين تفوق المذيب الميثانولي على المذيب الإيثانولي في إستخلاص كمية التانينات المكثفة.

وبغية دراسة النشاطية البيولوجية لنبات السعدان تطرقنا لدراسة النشاطية المضادة للأكسدة وذلك بالإعتماد على:

- إختبار الجذر الحر $DPPH^{\cdot}$, و قد أظهرت قيم الـ IC50 المتحصل عليها أن فعالية المستخلصات المضادة للجذر $DPPH^{\cdot}$ ضعيفة مقارنة بفعالية حمض الأسكوربيك، ، حيث قدرت قيم IC50 للمستخلصات على النحو التالي : 33,718 ، 19,389 ، 28,343 و 30,985 (µg\ml) عينات الأوراق للمستخلص الميثانولي، المستخلص الإيثانولي للأوراق ، المستخلص الميثانولي للثمار و المستخلص الإيثانولي للثمار على التوالي بينما قدرت قيمة IC50 لحمض الأسكوربيك بـ 14,483 (µg\ml).
- أما الإختبار الثاني فيتمثل في تقدير فعالية المستخلصات المضادة لإنحلال كريات الدم الحمراء (Hémolyse) ومقارنتها بفعالية حمض الأسكوربيك، إذ لاحظنا أن النتائج متوافقة تقريبا مع نتائج إختبار $DPPH^{\cdot}$ حيث تباينت العينات في تعزيزها لحماية كريات الدم الحمراء من الإنحلال رغم ضعف فعاليتها مقارنة بحمض الأسكوربيك وذلك من خلال نسب إنحلال كريات الدم الحمراء التي قدرت بـ : % 62,55 بالنسبة للمستخلص الإيثانولي للثمار و 56,47% بالنسبة للمستخلص الإيثانولي للأوراق عند التركيز 0.8 mg/ml
- إختبار القدرة الإرجاعية للحديدFRAP، وقد أظهرت قيم الـE_{C50} المتحصل عليها أن القدرة الإرجاعية للمستخلصات النباتية ضعيفة مقارنة بقدرة المرجع القياسي (حمض الأسكوربيك))، حيث قدرت قيم E_{C5} بـ: 0,698mg\ml بالنسبة للمستخلص الميثانولي للأوراق و0.651mg\ml بالنسبة للمستخلص الإيثانولي للأوراق بينما قدرت قيمة E_{C50} لحمض الأسكوربيك بـ 0,010mg\ml.

ومما سبق نستنتج أن تغير نوع المذيب المستعمل في عملية الاستخلاص لا يحدث إختلاف كبير في المحتوى الكمي للفينولات والفلافونويدات وكذا النشاطية المضادة للأكسدة بين المستخلصات النباتية، وقد ظهر ذلك من تقارب محتوى عيينات النبات.

وأخيرا ومن خلال كل ما توصلنا إليه فقد أظهرت دراستنا هذه فقر النبات من المركبات الفعالة التي تعطيه القدرة العلاجية على خلاف دراسات أخرى والتي أظهرت غناه بها، لذلك يجب متابعة البحث والقيام بدراسات أكثر لتحديد فعاليته الحقيقة. كما نأمل ان يكون عملنا هذا تكملة لمشوار تثمين نبات السعدان كونه من الثروات الطبية الطبيعية، وأن تكون دراسة تحفيزية لدراسات أخرى أكثر تعمقا وفتح آفاق جديدة حول هذا النبات كونه لا يوجد دراسات جديدة عنه، كما نقترح دراسة حول تغير المحتوى الكمي والنوعي لنواتج الأيض الثانوي للنبات خلال مراحله العمرية المختلفة.

المراجع

المراجع باللغة العربية:

المذكرات:

1. اراتني ن.،2008- دراسة التأثير المضاد للبكتيريا و المضاد للأكسدة لمستخلصات *Artimisiaherbaalba* و *Punicagranatum* و أنواع *Quercus* و بعض المركبات الفينولية. مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس،110 ص.

2.العابد إ.،2009- دراسة الفعالية المضادة للبكتيريا و المضادة للأكسدة لمستخلص القلويدات الخام لنبات الضمران *traganum nudatum*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة، الجزائر،105ص

3. العجال.ح، مكي. م.،2014-المساهمة في دراسة فيتوكيميائية و النشاطية البيولوجية لنبات صحراوي الأرطى *Calligonumcomosum* L'her النامي في منطقة واد سوف.مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي، جامعة الشهيد حمة لخضر الوادي، الجزائر،73ص

4. باز. م.،2006- إستخلاص، فصل و تحديد بنيات منتوج الأيض الثانوي عند نبات جنس *Centaurea*: *C.Sphaerocephala*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في كيمياء النبات، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر،87ص

5. بالفار آ.، 2018- دراسة القدرة المضادة للأكسدة و للبكتيريا و للتاكل للمستخلصات الفينولية لنبات *Limoniastrum guyonianum* (Dur.). مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر،208ص

6. بن خليفة ش، قعيد ه.،2018- مساهمة لدراسة مقارنة بين الفعالية البيولوجية لبعض مواد الأيض الثانوي المستخلصة من قشور ثمار الرمان*Punica granatum L*،مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في التنوع البيئي و فيزيولوجيا النبات، جامعة الشهيد حمه لخضر،الوادي،الجزائر، 65ص

7. بن سلامة ع.،2012- النشاطات المضادة للأكسدة و المثبطة للإنزيم المؤكسد للكزانثين لمستخلصات أوراق *Hertia cheirifolia* L. . مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر،78ص

8. بن عربية ع.،2013- دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبات الحناء *Lawsonia Inermis*لولاية أدرار، مذكرة ماستر جامعة قاصدي مرباح ، ورقلة، الجزائر، ص54.

9. بن عشورة ص.،2007-الفعالية المضادة للأكسدة للزيوت الطيارة و المركبات الفينولية ل *Deverra scoparia* , مذكرة لنيل شهادة الماجستير، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر

10. بن مرعاش ع.،2012-دراسة نواتج الأيض الثانوي الفلافونيدي و الفعالية المضادة للأكسدة للنبتة *Convolvulus supinus* Coss. & Kral*(Convolvulaceae)*.مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر،102ص

11. بو القندول ر.، 2011-الدور الوقائي لبعض المستخلصات الفلافونيدية ضد الإلتهاب الكبدي المحرض بالباراسيتامول لدى الجرذان.مذكرة ماجستير في فزيولوجيا امراض الخلية، جامعة منتوري قسنطينة،الجزائر، 93 ص

12. بو بلوطة ح.، 2009-النشاط المضاد للتأكسد وإمكانية وقاية المستخلصين الميثانوليين لنبتتي *Centaurea incana Matricaria pubecens* على السمية الكبدية، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في علم التسمم الخلوي و الجزيئي، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر،194ص

13. جرموني م.، 2009-النشاطية المضادة للأكسدة لمستخلصات نبتة الخياطة *Teucrium polium*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في البيوكيمياء والفزيولوجيا التجريبية،جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر،95ص

14. جيدل ص.،2015 - تقدير المحتوى الفينولية و التأثير المضاد للأكسدة لمستخلصات نباتات *Artemisia campestris* L.و*Pistacia lentiscus* L. و*Argania spinosa* L.، مذكرة لنيل شهادة دكتوراه علوم في البيوكيمياء،جامعة فرحات عباس سطيف1، الجزائر،151ص

15. حوة ا.، 2013- دراسة الفعالية البيولوجية لبعض نباتات العائلة الشفوية و الفعالية المضادة للاكسدة، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية و فزيوكيمياء الجزيئات، جامعة قاصدي مرباح ورقلة ،الجزائر،109ص

16. خطاف ع.،2011- فصل و تحديد نواتج الأيض الثانوي و دراسة الفعالية المضادة للأكسدة لنبتة(*Salsola tetragona Del. (Chenopodiaceae*، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية،جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر،122ص

17 زماليج.،2007 - دراسة فيتوكيميائية و بيولوجية لنبتة *Salanumnigrum* ، مذكرة ماجستير في الكيمياء، جامعة قاصدي مرباح ورقلة، الجزائر، ص 39-104

18. سبوعي.ع, دركي.م.، 2019- دراسة الفعالية البيولوجية للمستخلصات الفينولية و القلويدية لعشبة العلندة، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في الكيمياء العضوية، جامعة الشهيد حمى لخضر، الوادي،109ص

19.شبوعات ي.،2003- دراسة القلويدات في شجرة السدر(*Zizyphus Mauritiana*) ،مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية،جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،الجزائر،122ص

20. شويخ ع .،2004- تعداد النباتات الطبية في ولايتي أم البواقي والوادي .مذكرة لنيل شهادة الدراسات العليا في بيولوجيا النبات،المركز الجامعي أم البواقي،الجزائر، ص 40 - 10

21. ضيف ا.،2014-الواقع السوسيولوثقافي وعلاقته بالمشكلات البيئية مقاربة سوسيواثنوجرافية في منطقة وادسوف ، مذكرة دكتوراه ،جامعة محمد خيضر،بسكرة ص30

22. عابد ه.، 2011-الفعل الوقائي للمستخلص الفلافونيدي من الإلتهاب النفروني المحرض بالـ Paracetamolلدى الجرذان ، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في فزيولوجيا أمراض الخلية، جامعة منتوري قسنطينة ،الجزائر،83ص

23. علية ف، سعدون ن.،2017- مساهمة في تتبع المحتوى الفينولي و دراسة النشاطية المضادة للأكسدة لنبات المرخ *Genista saharae Coss*.et *Dur.* النامي في منطقة واد سوف خلال مراحل النمو المختلفة، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في بيولوجيا و تثمين النبات، جامعة الشهيد حمه لخضر، الوادي،الجزائر، 82ص

24.علاوي م.،2003- مساهمة في دراسة بعض المركبات العضوية الفعالة في نبات الرمث *Haloxyonscoparium*. مذكرة لنيل شهادة الماجستير في الكيمياء العضوية التطبيقية، جامعة ورقلة، الجزائر، ص: 6-11.

25. عمر ل.، 2010-دراسة بعض الخصائص البيوكيميائية لنبات الشيح *Artemisia herba alba*Asso ،مذكرة لنيل شهادة الماجستير في تثمين الموارد النباتية، جامعة فرحات عباس سطيف، الجزائر، 90 ص

26.عيشاوي س، قانة ش.،2018- المساهمة في التعرف على منتجات الأيض الثانوي و دراسة الفعالية البيولوجية لنبتتين من منطقة بشار، مذكرة لنيل شهادة ماستر أكاديمي في كيمياء المنتجات الطبيعية، جامعة قاصدي مرباح، ورقلة،الجزائر،56ص

27. لقرون ز.،2016- دراسة الدور الوقائي لبعض المركبات النشطة بيولوجيا إتجاه الأثر السمي للمبيدات و الهيدروكربونات على الجهاز العصبي و المناعي عند الجرذان، مذكرة لنيل شهادة الدكتوراه علوم في علم التسمم و الصيدلة، جامعة الاخوة منتوري قسنطينة،الجزئر ،125ص

28. محمد بو عبدالله س.،2011-دراسة بعض التأثيرات البيولوجية لمستخلص نبات الشاي الأخضر *Camellia Sinensis* على النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا، مذكرة لنيل شهادة الماجستير في فزيواوجيا امراض الخلية، جامعة منتوري قسنطينة، الجزائر،92ص.

29. ميثاق ج.،2010- بحث و تحديد نواتج الأيض الثانوي لنبات القات*Catha edulis* من العائلة (*Celastraceae*) ونبات البوليكاريا *Pulicariajaubertii* من العائلة (*Asteraceae*) و تقييم الفعالية البيولوجية، مذكرة لنيل شهادة دكتوراه في كيمياء النباتات، جامعة منتوري، قسنطينة،الجزائر،177ص

ـ المقالات:

1. أسيل ك.أو سعاد خ.ع.،2011-التحري عن انزيم الكاتاليز في بذور بعض النباتات و دراسة خصائصه، مجلة ديالى للعلوم الزراعية 3(2):777-784.

2.الحلو،ر.م.، البكري، إ.م.،الصباغ، م.م.، 2013- إستخلاص الفينولات من مياه عصير الزيتون بمحلات مختلفة و دراسة فعالية المستخلصات كمضادات أكسدة، مجلة دمشق للعلوم الأساسية، 29(02): 310-309.

3. حسن م.م و إسراء م.ع.،2019- الفلافونويدات و خواصها الدوائية، مجلة العلوم الطبية و الصيدلانية المجلد (3) العدد (4):ص1-29.

4. رويدة إ. س و عماد إ .ع.،1999- الجذور الحرة و جملة مضادات الأكسدة و داء التهاب المفاصل الرثياني، مجلة جامعة دمشق المجلد (5) العدد (2).

5. نعمه ج، أبو مجداد، جبر م.،2007- تقييم الفعالية الضد المايكروبية للمستخلص المائي والكحولي لأوراق نبات السدر*Ziziphus spina- christi* (L) Desf،مجلة البصرة للعلوم (ب) ،مجلد (25) ، العدد (1) ،1-.

ـ الكتب:

1.الموصلي م.أ.،2016- النباتات الطبية في المدونات الأثارية و المراجع الاسلامية و المصادر المعاصرة، دار الكتب العلمية، ص7.

2. حجاوي غ.،المسيمي ح.،قاسم م.ج.، – 2004 علم العقاقير ،الطبعة الأولى، مكتبة دارالثقافة للنشر و التوزيع ،عمان،الأردن.

3.حليسي.،2005- الموسوعة النباتية لمنطقة سوف – النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير. مطبعة الوليد .الوادي،الجزائر، 248 ص.

4. حليس ي.،2007-الموسوعة النباتية لمنطقة سوف، النباتات الصحراوية الشائعة في منطقة العرق الشرقي الكبير، دار الوليد- الوادي، الجزائر، 140-141ص

5. سعد أحمد س ح.عادل زكي م ب. محمود علي ا ب.،2008-تكنولوجيا الصناعات الغذائية أسس حفظ و تصنيع الأغذية، المكتبة الأكاديمية شركة مساهمة مصرية، القاهرة، جمهورية مصر العربية، 183ص.

6.غنيمي ع ع.،1993- موسوعة نباتات الامارات العربية المتحدة في تراث الطب الشعبي، جامعة الامارات العربية المتحدة، 308 ص.

7. محمد كريم ف. الدخيل ع ج. ناندوري راو ك.،2013- النباتات المتحملة للملوحة في دولة الإمارات العربية المتحدة، المركز الدولي للزراعة الملحية. دبي،170 ص.

8. منصور ح.، 2006- النباتات الطبية العلمية وصفها مكوناتها طرق إستعمالها وزراعته. جامعة الزقازيق، القاهرة، مصر، ص:355-365، 367-370.

المراجع باللغة الأجنبية:

LES Liver:

1.AKBAR G,FATIMA S.,2012-floral cuide indus ecoregion, wwwf-pakistan,199p.

2.CHRISTENHUSZ M.J.M , FAY M.F, CHASE M.W.,2017-plants of the world (an illustrated encyclopedia of vascular plants), Kew publishing royal botanic gardens.Kew,79-80p.

3.COMBIEN.H., JAY.M., VOIRIN.B.,LEBRETON.P.,1974- Influence des -6 (et \ ou) des – 8 substitution sur la comportement spectrométrique et chromatographique des flavonoides assemblée du (groupe polyphénols).Lyon, France

4.DAOUD H.S.,2013-flora of kuwait volume 1:dicotyledoneae, routledge taylor et francis group. new york.london,16p.

5.GRYGLEWSKI R.J., KORBUT R and SWIES J., 1987- Biochemie. Pharmcol. P36-317.

6. MSAGATI TITUS A.M.,2013- chemistry of food additives and presevatives. edition first, wiley-blackwell A John Wiley & Sons, Ltd., Publication, The UK, 4p

7.SHIJLEM.E., 2007 – Genetic engineeriny of flavonoid biosynthesis in tomato.MVA2-DARE, Amstesdam, p161.

LES Mémoire:

1.ATI.S., 2018-Etude biologique et phytochimique de trois gênets endémiques en Algérie: «*Genista numidica Spach, Genista ferox Poiret et Genista tricuspidata Desf*» , Thèse vue de l'obtention du diplôme de doctorat en biologie végétale, Universite Badji Mokhtar -Annaba,Algerie, 114p.

2. AZZI. R.,2013 - Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le -traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Quest algérien :enquéte ethnopharmacologique ; Analyse pharmaco-toxicologique de figuire *Ficus carica* et de coloquinte(*Citrullus colocynthis*) chez le rat wister.these doctrorat en biologie , Universite Abou Bekr Belkaid Tlemcen ,169p

3.BABA AMER.Z.,2013- Chemical constituents of flora of Algeria chemical constituentes of Pergularia tomentosa L, Mémoire doctorat science in chemistry, University Kasdi Merbah,Ouargla, Algerie, p131.

4.BELHAOUES.S.,2018-Etude phytochimie et activités biologique des extraits de feuilles et de fruits *Chmaerops humilis* L, Thése présentée en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en biologie spécialité santé environnementale, Universite Badji Mokhtar- Annaba,Algerie, 122p.

5.BELKHIRI.F.,2009-Activité antimicrobienne et antioxydante des extraits *Tamus Communis L.* et *Carthamus Caeruleus L* ,Mémoire Magester en microbiologie applique,Université Farhat Abbas,Algerie,141p.

6. BETINA.M,BENCHARIF.S., 2015- Isolement et caractérisation de saponosides extraits de deux plantes médicinales *Cyclamen africanum*,*Zygophyllum cornutum* et évaluation de leur activité anti-inflammatoire,Thése en cotutelle pour l'obtention du grade du diplôme de doctorat en biotechnologie végétale et pharmacognosie ,Université Constantine 1,Algerie et Université Bourgogne, France, 201p.

7.BOUBALI. Z.,2017-Biomarqueurs de stress oxydatif,thése doctorat en pharmacie,Université MOHAMMED 7 de Rabat,Moroco,134p.

8.BOUDJELLAL.K.,2009-Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de l'*Elaeagnus angustifolia* L, Mémoire Magister en biochimie appliquée, Universite El Hadj Lakhder-Batna,Algerie, 51p.

9.BOUDJOUREF. M.,2011-Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraitsd*'Artemisia campestris L*,Mémoire de magester en biochimie, Université Ferhat ABBAS Sétif,Algerie,64p.

10.BOUTAGHANE.N.,2013-Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulicina* spach (*Fabaceae*) et *Chrysanthemum macrocapum* (Sch.Bip) Coss & Kralik ex Batt (*Asteraceae*), diplôme de doctorat en chimie pharmaceutique,Universite de Constantine 1, Algerie, 254p.

11. DERAI .H.,2016-Effet de la combinaison de la vitamine C et la vitamine E sur le métabolisme et la distribution du zinc chez des rats diabétiques sous un régime alimentaire pauvre en zinc,Thése de Doctorat en sciences,Université Badji Mokhtar –ANNABA-,Algerie,96p.

12. DJAHRA.A.B.,2014- Etude phytochimique et activité antimicrobienne, antioxydante, antihépatotoxique du Marrube blanc ou *Marrubium vulgare L*, Thése de doctorat en biologie végétale, Universite Badji Mokhtar -Annaba,Algerie,73p

13.GHAYATI .Z.,2019-Antioxydant et diabet de type 2,Thése de Docteur en pharmacie,Université MOHAMMED7 de RABAT,Moroco,127p.

14. HARRAR.A.,2012- Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus L*, diplôme de Magister en biochimie et physiologie expérimentale, Universite Ferhat Abbas – Sétif, Algerie,67p

15. HAYOUNI E., ABEDRABBA M., BOUIX M., HAMDI M ., 2007- The effects of solvent and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quecus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food Chem, 105: 1126-1134.

16.JUDITH.M.D., 2005- Etude phytochimique et pharmacologique de Cassia nigricans vahl, (Caesalpinpaceae) utilisée dans traitement des dermatose au Tchad, Universit é de Babako, Mali, Thèse pour obtenir le grade de docteur, 212.

17.KADRI.H. ,2017- Etude phytochimique de quelques plantes de la Numidie Algérienne, diplôme de doctorat en synthèse et développement de molécules bioactives, Universite Badji Mokhtar- Annaba,Algerie, 126p

18.KANOUNE .K.,2011-Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de *Myrtus communis* L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine),Mémoire de Magester en Substances naturelles, activités biologiques et synthèse ,Université Aboubeker Belkaid Tlemcen,Algerie,96p.

19.KIM .D.,2018- Diabetes et stress oxidante,Thése de Docteur en pharmacie,Aix Marseille Université,Marseille,63p.

20.KRIM. M.,2014-L'importance des antioxydants (Gingembre) dans la réduction des effets toxiques induits par les chromates chez les rats,Thése de Doctorat 3ème cycle en Biochimie Appliquée, Université Badji Mokhtar –Annaba-,Algerie,145p.

21.MILAN H.,2004-La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère prooxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques,Thése de Docteur en pharmacochimie,Université Louis Pasteur Strasborgi,268p.

- Les Articles:

1.ABIRAMI A., GUNASEKARAN N., & PERUMAL S., 2014- In vitro antioxidant, anti-diabetic, cholinesterase and tyrosine inhibitory potential of fresh juice from *Citrus hystrix* and *C. maxima* fruits. Food Science and Human Wellness,(03)18-22

2.ALBRECHTD.E, BARKER R.M, BARKER W.R, GAVINJ.,2002-Neurada procumbens L.(Neuradaceae): a new record for australia's sandy deserts, journal plant protection quarterly,17(4):158-161.

3. ALBUQUERQUE U.P, HANAZAKI N.,2006-As pesquisas etnodirigidas na descoberta de novos fármacos de interesse médico e farmacêutico: fragilidades e pespectivas,Revista Brasileira de Farmacognosia , 16: 1981-5286

4.ALLI J.A, KEHINDE A.O, KOSOKO A.M, ADEMOWO O.G.,2014-Oxidative Stressand Reduced Vitamins C and E Levels Are Associated with Multi-Drug Resistant Tuberculosis,Journal of Tuberculosis Research,2:52-58.

5.ANJUM N.A, AHMED I, MOHMOOD I, PACHECO M, DUARTE A.C, PEREIRA E, UMAR SH, AHMED A, KHAN N.A, IQBAL M, PARASAD M.N.V.,2012- Modulation of glutathione and its related enzymes in plants' responses to toxic metals and metalloids—A review, Environmental and Experimental Botany ,75:307-324.

6.ARABACI G, USLUOGLU A,2013- Catalytic Properties and ImmobilizationStudies of Catalase from *Malva sylvestris* , Hindawi Publishing Corporation Journal of Chemistry,6p.

7.ATMANI D. CHAHAR N. BERBOUCHA M. AYOUNI K. LOUNIS H. BOUDOUD H. DEBBACHE. & ATMANI D., 2009- Antioxidant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. Food Chemistry, 112: 305

8.AYALA A, MUNOZ M.F, ARGUELLES S.,2014- Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal, Oxidative Medicine and Cellular Longevity,31p

9.BAKERL.M.S,RAUDONIKIENE.A,HOFFMAN P.S,POOLE L.B.,2011- Essential Thioredoxin-Dependent Peroxiredoxin System from *Helicobacter pylori*: Genetic and Kinetic Characterization, Journale of Bacteriologie,183(6):1961-1973.

10. Baldosanoh Y ,Castillom G, Beatriz M ,Danicachantal H ,Ellora N ,Florinda T ,Bacani., 2015-effect of article size .solvant and extraction time on tannin extractfromspondiaspurpureabarkthroughsoxhletextraction.proceedings of the dlsu researchcongress.

11.BANERJEE.B.,KUNWAR.A.,MISHRA.B.,PRIYADARSINI.K.L.,2008- Concentration dependent antioxidant \ pro-oxidant activity of curcumam studies from AAH induced hemolysis of RBCs, Chemico-bioligical Interactions, (174):138.

12.BEHERY M.K.,2019-family Neuradaceae j.G.agardh in saudi arabia,african journal of plant science,13(2):21-24

13.BOIZOT N,CHARPENTIER J-P.,2006- Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phéno-liques des organes d'un arbre forestier, Cahier des Techniques de l'INRA, INRA,79-82

14.BORZATTIA, GARBARI F.,2002-karyological aspects of the genus Neurada L.(Neuradaceae j.g agardh,caryologia (international journal of cytology cytosystimatique and cytogenetics),55(4):361-365.

15.CAI Y. LUO Q. SUN M. &CORKE H., 2004- Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional chinese medicinal plants associated with anticancer. Life science, published by Elsevier In., 74: 2176.

16. CHELALBA I,. BENCHIKHA N,. BEGGA S,. MESSAOUDI M,. DEBBECHE H,. REBIAI A,. YOUSSEF F.S.,2020- Phytochemical composition and biological activity of *Neurada procumbens* L. growing in southern Algeria**,** Journal of Food Processing and Preservation**,**

17. Dahou N, Yamki K, Tahrouch S, Idrissi- Hassini L M , Gmira N., 2003- screening phytochimique d'une endémiqueibéromarocainethymelaealythroides. ed., bull. soc. pharm., bordeaux.67p

18.DOLCI.A& PANTEGHINI.M., 2014- Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible, Clinica Chimica Asta,(432): 38.

19.DECRAENE L.P.R and SMETS E.F.,1995-the floral development of Neurada procumbens L.(Neuradaceae),Acta bot.neel, 44(4):439-451

20.FLORA G, GUPTA D,TIWARI A.,2012- Toxicity of lead: A review with recent updates, Interdiscip Toxicol,5(2): 47-58.

21.FLORA S.J.S.,2009- Structural, chemical and biological aspects of HALENG J antioxidants for strategies against metal and metalloid exposure,Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2(4):191-206

22. Fülöp, F.,2000- The chemistry of 2-aminocyclopentanecarboxylic acid. In Studies in Natural Products Chemistry (Vol. 22, pp. 273-306): Elsevier.

23.FULLER M.F., 2004- The encyclopedia of form animal nutrition. CABI publishing, London, UK, p581

24. GOUPY P., DUFOUR C., LOONIS M ., DANGLES O., 2003- Quantitative kinetic analysis of hydrogen transfer reactions from dietary polyphenols to the DPPH radical , J Agric Food Chem. 51: 615-622.

25. PINCEMAIL J, DEFRAIGNE J.O, CHARLIER C, CHAPELLE J.P.,2007- Le stress oxydant, Rev Med Liege 62 (10) : 628-638

26.HALLIWELL B, GUTTERIDGE J.M.C.,1986-Oxygen Free Radicals and Iron in Relation to Biology and Medicine: Some Problems and Concepts, ARCHIVES OF BIOCHEMISTRY AND BIOPHYSICS,246(2):501-514

27.HAYAT M.M., UZAIR M.,2020-GC-MS analysis and pharmacological potentials of Neurada procumbens, Biomedical Research, 31(1)

28.HEGAZY A.K, ALATAR A.A, AJMAL K.M, LOVETT-DOUST J.,2014- interaction between "safe sites" and "safe sides" for germination of Neurada procumbens L.(Neuradaceae) in the middle east institute of botany, academy of sciences of the czech republic.

29.JAKUBCZYK M, MICHALKIEWICZ S.,2018-Electrochemical behavoir of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene in acetic acide solutions and their voltammetric determination in pharmaceutical preparation,international journal of electrochemical science,13:4251-4266

30. JAVANMARDI J. STUSHNOFF C. LOCKE E. & VIVANCO J. M., 2003- Antioxidant activity and totol phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry, 83: 549.

31. JOANNY M.B.F., 2005- la superoxyde dismutase ,puissant antioxydant natural, disponible par voie orale .*Phytothérapie*. 3 :118-121.

32. Karamać M.,(2007) FE(II), CU(II) and ZN(II) Chelating activity of buckwheat and buckwheat GROATS tannin fractions. *Pol J Food Nutr Sci*. 57(3): 357-362

33. KEDARE S.B,. SINGH R.P., 2011-genesis and development of dpph method of antioxidant assay, journal of food science and tchnologie, 48(4): 412-422

34.KHURCHID U., AHMED S., SALEEM H., NAWAZ H.A., ZENGIN G., LOKATELLI M., MAHOMOODALLY M.F., ZAINAL ABIDIN S.A., TOUSIF M.I., AHEMAD N.,2019-Phytochemical composition andin vitropharmacological investigations ofNeurada procumbensL. (Neuradaceae): A multidirectional approach forindustrial products, Industrial Crops & Product,142(2019): 111861

35.KUMAR S, PUROH CS, KULLOLI RN.,2015-botanical survey of india.Arid Zone Regional center.jodhpur,17(4):4p

36.LEBROS J.,FREMEAUX P.,1990-Extraction solide-liquide aspects théorique, techniques de l'ingénieur, Génie des procédés. Vol. (2J2780): J2780.1-J2780.22.

37. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jime´nez L., (2004) Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am J Clin Nutr*.79:727-747.

38.MARZOUK M.M,HUSSEIN S.R,IBRAHIM L.F,ELKHATEEB A, KAWASHTY S.A, SALEH N.A.M.,2014- flavonoids from Neurada procumbens L. (Neuradaceae) in egypt, biochemical systematics and biology,57:67-68

39.MATKOWSKI A., PIOTROWSKA P., 2006- Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*. 77(5): 346-353

40. MEDINI F., FELLAH H., KSOURI R., ABDELLY CH.,2014-Total phenolic, flavonoid and tannin contents and antioxidant and antimicrobial activities of organic extracts of shoots of the plant Limonium delicatulum, Journal of Taibah University for Science,8(2014):216-224

41.MOLYNEUX P., 2004- The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol., 26 (2): 212-216.

42. NOTO L. UCHOA A. MOURA A. FILHO B. TENORIO G. GOMSE A. XIMENES R. VANUSA M. & CORREIA M. T., 2016- Phytochemical screening, total phenolic content and antioxidant activity of some plants from Brazilian flora. Journal of medicinal Plants Research, 10 (27): 412

43. ODAJIMA N., BETSUYAKU T., NAGAI K., MORIYAMA C., WANG D.H.,TAKIGAWA T., OGINO K. and NISHIMURA M., 2010- The role of catalase in pulmonaryfibrosis. *Respiratory Research* . 11: 183

44. Ordonez A., Gomez J., Vattuone M., Lsla M. I.,2006- Antioxidantactivities of Sechium edule (Jacq.) Swartz extracts. Food Chemistry, vol.99. 452 458p

45.OYAIZU M.,1986- Studies on products of browning reaction : antioxydative activites of browning reaction prepared from glucosamine. Japanese journal of nutrition, 44, 307-315

46.OZGEN U.,MAVI A.,TERZI Z.,YILDIRUM A.,COSKUN M.,HOUGHTON P.J.,2006-Antioxydant properties of some medicinal lamiaceae (labiatase) species, pharmaceutical biologie,44(2):107-112.

47.PAL M, MISRA K, DHILLON G, VERMA M.,2014-. Antioxidants, Springer Science+Business Media New York,

48.PINCEMAIL.J., DEBBY.C., LION.Y., BRAQUET.P., HANS.P., DRIEU.K and GOUTIER.R.,1986- Stud .Org.Chem, 23 p :423

49.RAJAEI.A., BARZEGAR.M., HAMIDI.Z., SAHARI.A., 2010- Of extraction conditions of phenolic compounds from pistachio (Pistachia vera) green hull through response surface method,J Agr Sci Tech, 12:608

50.RICE E. L., 1984- Allelopathhy. Academic Press. Orlando. Cité par Bagchi et al., 1997

51.SIDENEY.B.O., DIRCEU.A.; AMARILDO.A.T., ALESSANIDRA.B.T., 2016- Total phenolic, flavonoid content and antioxidant activity of vitex megapotamic (Spreg) Moldenke, Ciencia Natura, 38 (3): 1199-1200.

52.SINGLETON V.L., ORTHOFER R., LAMUELA-RAVENTOS R.M.,1999 **-** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent. In: Packer L, editor. Methods in enzymol: oxidant and antioxidants (part A), 299. San Diego, CA: Academic Pres.152–78p.

53.TREASE E., EVANS W., 1987- A textbook of Pharmacognosy Bacilluere

54.TRUSH M.A.,MIMNAUGH E.G.,GRAM T.E.,1982-Activation of pharmacologic agents to radical intermediates, biochemical pharmacology, (printed in great britain), 31(21):3335-3346.

55.TURKI Z.A.,2007-Neuradaceae j.G agardh in egypt, flora mediterranea,17:137-142.

56.VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, CRONIN M T.D, MAZUR M, TELSER J.,2007- Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39 (2007) :44-84

57.WANG L, YEN J-H, LIANG H-L, WU M-J.,2003-Antioxidant Effect of Methanol Extracts from Lotus Plumule and Blossom (*Nelumbo nucifera* Gertn.), *Journal of Food and Drug Analysis*,11(1):60-66

58. YEO S. O. GUESSENND K. N. MEITE S. OUETTARA K. BAHI GNOGBO A. N'GUESSAN J. D. & COULBALY A., 2014- In vitro antioxidant activity of extracts of the root Cochlospermum planchonii Hook. F. ex. Planch (Cochlospermaceae). Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 3 (4): 167.

59.ZAREEN S,ZAHRA S.S, MEHMOOD A, ASADULLAH M, MUHAMMAD A.,2017-in vitro propagation of Neurada procumbens L.(chipri Booti): an endangered medicinal plant from cholistan desert, pakistan journal of agricultural researcie 31(6):1-6.

- **SITE ENTERNET:**

(https://www.gbif.org/species/3701813)

الملاحق

الملحق رقم (01): الاجهزة المستعملة في المخبر



حاضنة Etuve



جهاز الرج المغناطيسي



جهاز التبخير الدوراني Rotavapeur



جهاز الطرد المركزي

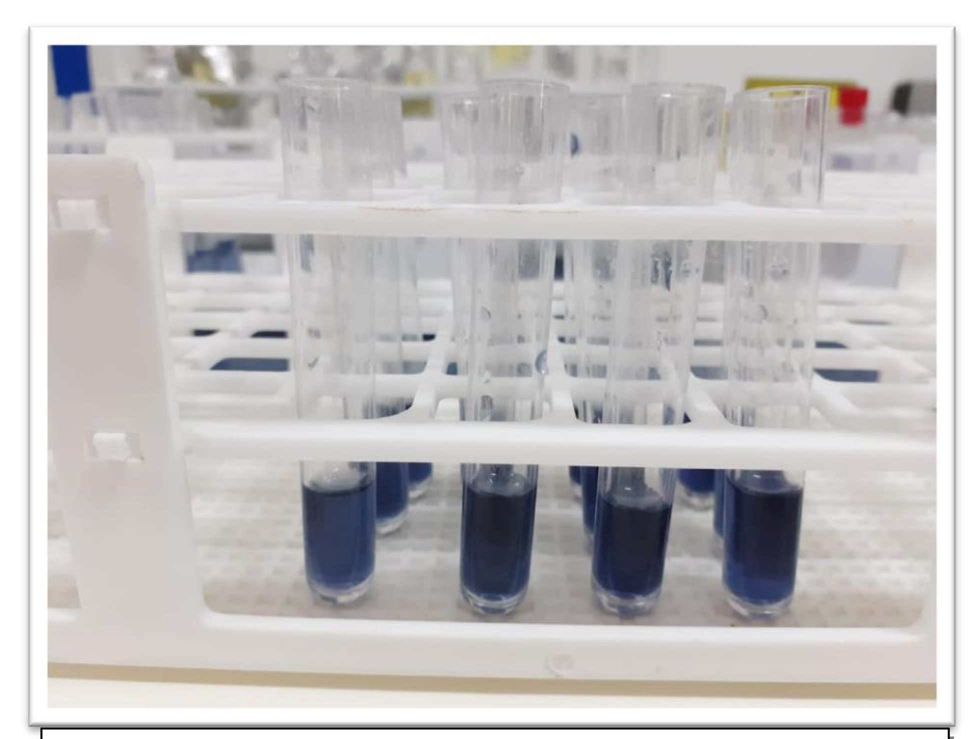


جهاز المطيافية الضوئية (Spectrophotomètre)

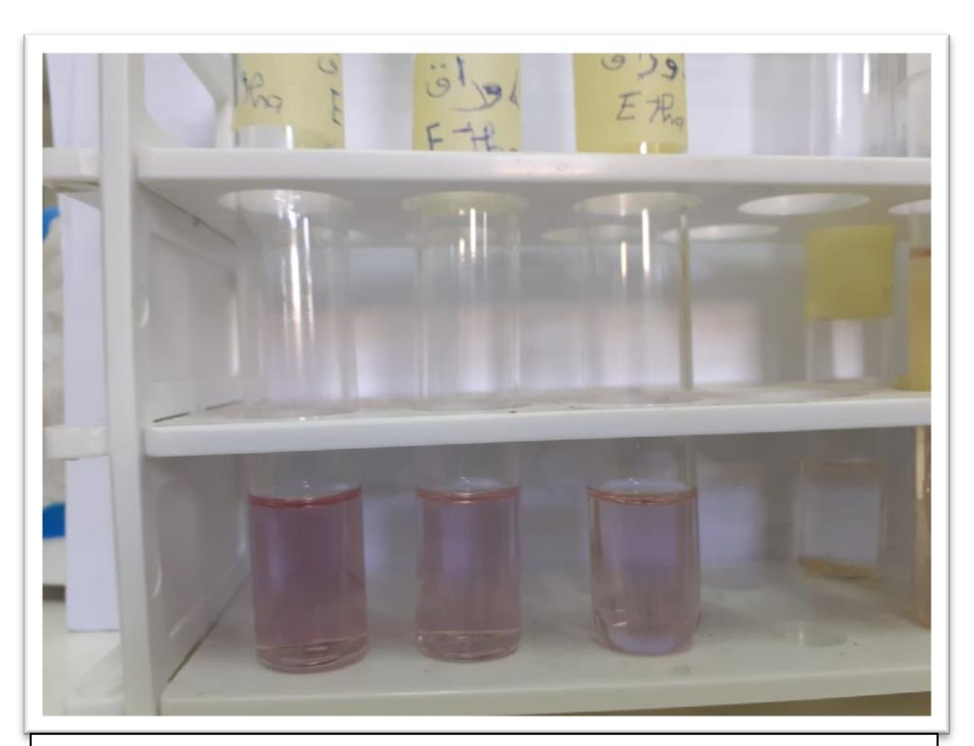
الملحق رقم (02): اوزان المادة النباتية المستخلصة

انبوب	وزن الانبوب فارغ	وزن الانبوب مع العيينة	الوزن الخام للمستخلص
الاوراق ميثانول	139.62 g	140.651 g	1.031 g
الثمار ميثانول	153.361 g	154.252 g	0.891 g
الاوراق ايثانول	139.62 g	140.853 g	1.233 g
الثمار ايثانول	148.92 g	149.730 g	0.81g

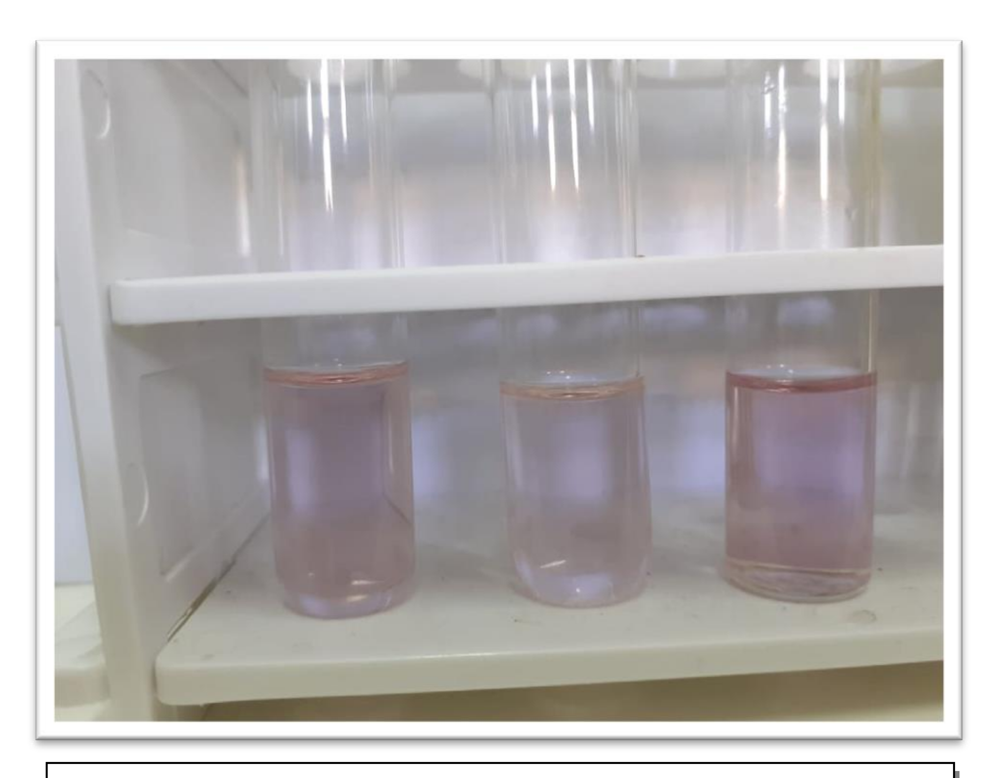
الملحق رقم (03): صور نتائج تقدير محتوى الفينولات و التانينات المكثفة



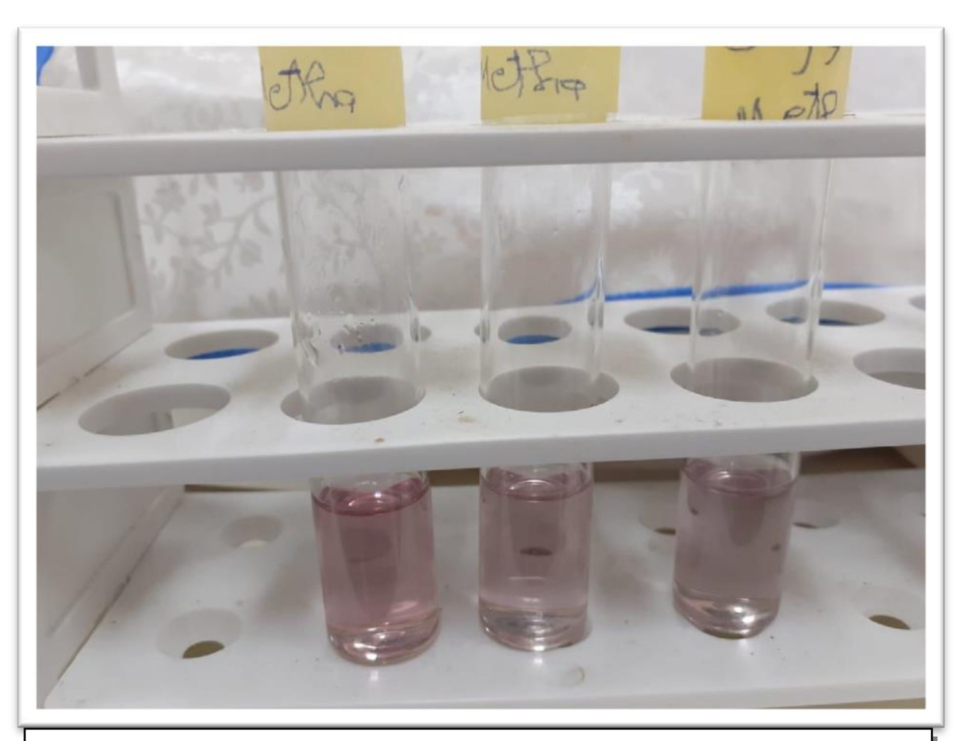
صورة توضح تقدير الفينولات الكلية



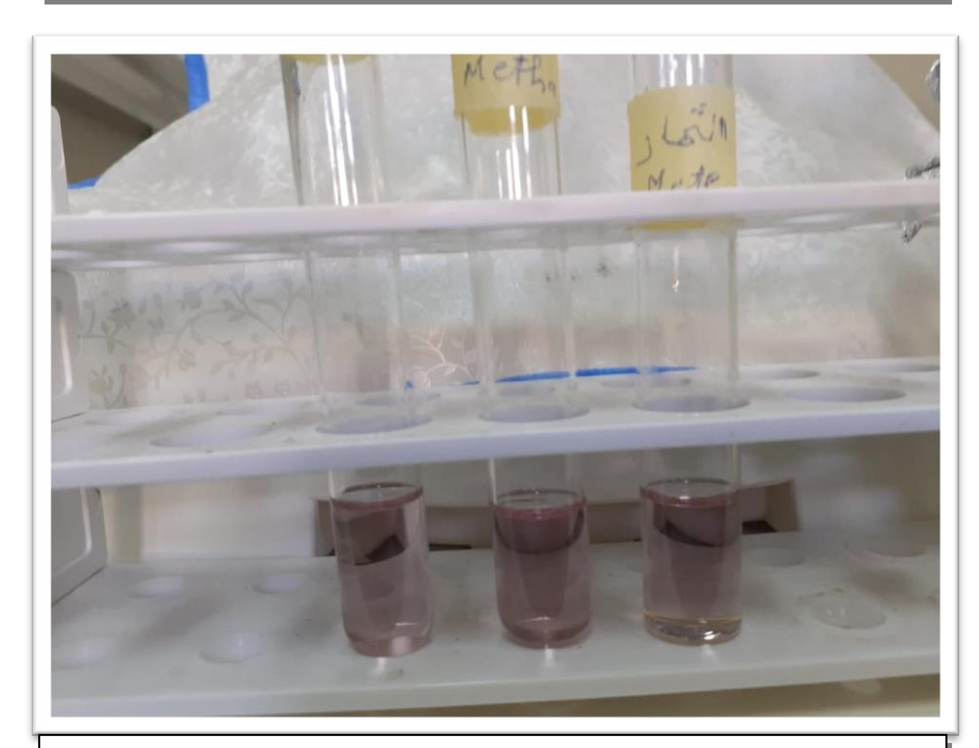
صورة توضح تقدير التانينات المكثفة للمستخلص الايثانولي للاوراق



صورة توضح تقدير التانينات المكثفة للمستخلص الايثانولي للثمار



صورة توضح تقدير التانينات المكثفة للمستخلص الميثانولي للاوراق



صورة توضح تقدير التانينات المكثفة للمستخلص الميثانولي للثمار